

Aus dem Pathologischen Institut
(Direktor: Prof. Dr. H. Bredt)
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**Enzymhistochemische Untersuchungen an der
Darmschleimhaut der Ratte
im absoluten Hungerzustand**

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
zur Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
Peter Noll
aus Oppenheim/Rhein

Mainz 1972

Aus dem Pathologischen Institut (Direktor: Prof. Dr. H. Bredt)
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Enzymhistochemische Untersuchungen an der Darm-
schleimhaut der Ratte im absoluten Hungerzustand

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
zur Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Peter N o l l

aus Oppenheim/Rhein

Mainz 1972

Fachbereichsdekan:

Prof. Dr. R. Wolf

Referent:

Prof. Dr. A. Schäfer

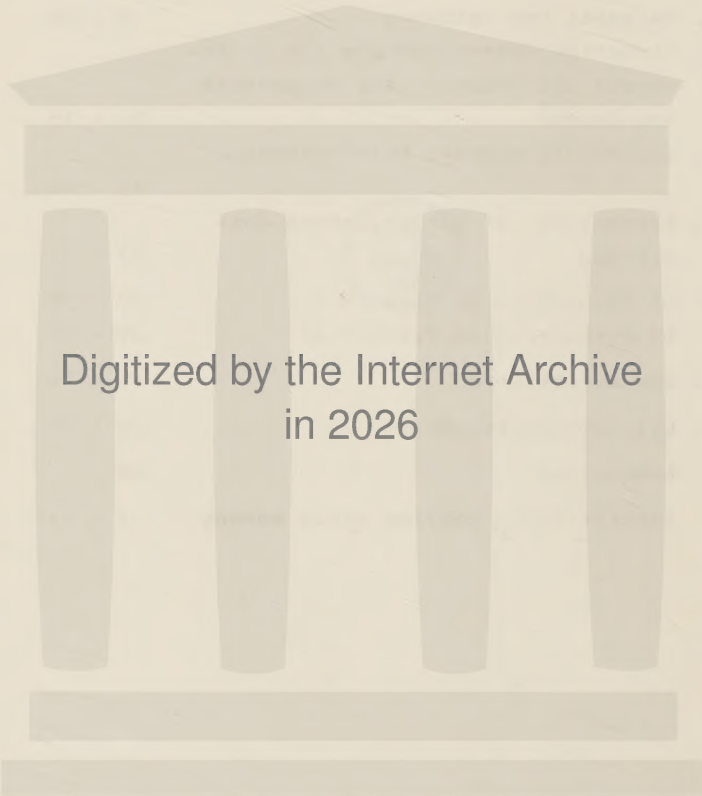
Coreferent:

Prof. Dr. H. Bredt



Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung	1 - 2
II. Material und Methoden	2 - 9a
III. Bisherige Untersuchungen zur Histochemie und Funktion der dargestellten Enzyme	9a - 15
IV. Ergebnisse eigener Untersuchungen	16 - 22
V. Ergebnisse der statistischen Auswertung	23 - 31
VI. a) Diskussion zu Versuch I	32 - 38
b) Diskussion zu Versuch II	38 - 44
VII. Zusammenfassung	44 - 45
VIII. Literaturverzeichnis	43 - 61
IX. Lebenslauf	62
Statistische Tabellen siehe Anhang	1 - 51



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung

Das histochemisch determinierte Enzymmuster der Epithelzellen des Darmes ist abhängig von endogenen und exogenen Faktoren. So können sich Ernährungsstatus, Hungern -permanent oder intermittierend-, Alter, Geschlecht, Tages- und Jahreszeit bestimmend auswirken. Von diesen Faktoren wurden bei experimentellen Ansätzen und deren Interpretation besonders der tages- und jahreszeitliche Einfluss auf die untersuchten Systeme nicht immer in ausreichendem Masse beachtet. Wenn auch über das Bestehen tagesrhythmischer Schwankungen in biochemischer, histologischer und besonders verhaltensbiologischer Hinsicht eine ausgedehnte Literatur besteht, HALBERG (40), BÜNNING (11), ASCHOFF (3), MAYERSEBACH (63), so herrscht doch erstaunlicher Mangel an histochemischen und biochemischen Daten über circadiane Schwankungen enzymatischer Aktivitäten in Zellen, Geweben und Organen von Säugetieren.

Eine grössere Informationsbreite liegt über cytochemische und enzymatische Reaktionen des Darmes, induziert durch verschiedene diätetische Belastungen, vor. Solche Veränderungen, die als metabolische Adaptationen zu verstehen sind, beinhalten viele Konzentrationsänderungen von Enzymen und anderen spezifischen Proteinen.

In der vorliegenden Arbeit wird der Einfluss akuter Inanition auf das Enzymmuster des Darmes

von Ratten und das Bestehen tagesrhythmischer Schwankungen nach einer Hungerperiode von drei Tagen, untersucht. Der Nachweis genannter Kriterien erfolgt mit histochemischer Methodik bei folgenden Enzymen:

Saure Phosphatase, Adenosintriphosphatase, Glucose-6-Phosphatase, Monoaminoxidase, beta-Hydroxybuttersäuredehydrogenase, Lactatdehydrogenase und Malatdehydrogenase.

II. Material und Methoden

Für die Untersuchungen wurden männliche Albino-ratten des Sprague-Dawley Stammes (Zucht des Pathologischen Institutes Mainz) verwendet. Die Tiere wogen zwischen 200 und 400 Gramm. Als Futter diente eine Standardnahrung (Altromin R 10 Mischfutter). Die Tiere wurden unter gleichen Bedingungen in Einzelkäfigen, bei Zimmertemperatur und normalem Tageslicht gehalten. Es wurden keine Vorkehrungen zur Verhinderung der Koprophagie getroffen. Die Untersuchungen wurden während der Monate Oktober und November vorgenommen.

Versuch I

Den Versuchstieren war die Nahrung für folgende Zeiträume entzogen worden:

8, 16 Stunden, 1, 2, 3, 5, 7, 11 Tage . Wasser stand ad libitum zur Verfügung. Für jeden der angegebenen Zeitpunkte wurde eine Gruppe von drei Versuchstieren zusammen mit ad lib. ernährten Kontrolltieren untersucht. Die Entnahme des Darmes erfolgte jeweils um 16.00 Uhr, nach Betäubung der Tiere durch Äthernarkose. Es wurden entnommen: 1 cm lange Darmabschnitte

1. vom oberen Duodenum, unmittelbar nach dem Pylorus
2. vom oberen Jejunum, unmittelbar nach der Flexura duodeno-jejunalis
3. und 4. zwei weitere Stücke in gleichen Abständen aus dem Abschnitt zwischen der Flexura duodeno-jejunalis und der Ileocoecalklappe
5. vom unteren Ileum, unmittelbar vor der Ileocoecalklappe
6. vom Colon ascendens

Die Darmabschnitte wurden sofort nach ihrer Entnahme mit ihrer Längsachse senkrecht auf ein

Mikrotomtisch (System: Dittes-Duspiva) mit Kohlensäureschnee aufgefroren. Von einem so gewonnenen Gewebsblock mit sechs Darmabschnitten eines Tieres, wurden für jedes zu untersuchende Enzym vier Kryostatschnitte angefertigt. Die Schnittdicke betrug einheitlich 16/^u.

Versuch II

Die Versuchsgruppe bestand aus 30 Tieren, fünf Exemplare für jeden der sechs Zeitpunkte. Diesen Tieren war die Nahrung für drei Tage entzogen worden. Wasser stand ad lib. zur Verfügung. Die Darmabschnitte wurden nach der, bei Versuch I beschriebenen Methode, zu folgenden Zeitpunkten entnommen:

4.00 Uhr, 8.00 Uhr, 12.00 Uhr, 16.00 Uhr und 24.00 Uhr.

Die Untersuchungen wurden an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen ausgeführt. Dabei wurde Material von verschiedenen Zeitpunkten zusammen verarbeitet. Die Anfertigung der Schnitte erfolgte wie oben beschrieben.

Histochemische Methoden:

Saure Phosphatase (SPh): Metallsalzmethode nach Gomori, PEARSE (7/)
Kryostatschnitte 16 /^u, Fixation in 4%igem neutralem Formalin für eine Stunde bei 4°C. Die

Inkubationslösung enthielt: Na-Glycerophosphat und Bleiacetat, pH 5.3. Inkubationszeit: 5 Std. bei 37°C. Farbentwicklung mit Ammonsulfit. Eindeckung mit Eukitt nach Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe.

Glucose-6-Phosphatase (G-6-P): Schwermetall-simultanmethode nach v. DEIMLING (20)

Kryostatschnitte 16 /^u, Fixation in 6%igem Glutaraldehyd für 5 Min. bei 5°C. Die Inkubationslösung enthielt: Bleinitrat, Triäthanolamin, Magnesiumchlorid, Dinatrium-Glucose-6-Phosphat, pH 7.0. Inkubationszeit 60 Min. bei 37°C. Farbentwicklung mit Ammonsulfit. Eindeckung mit Eukitt nach Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe.

Adenosintriphosphatase (ATPase): Schwermetall-simultanmethode nach v. DEIMLING (20)

Kryostatschnitte 16 /^u, Fixation in 6%igem Glutaraldehyd für 60 Min. bei 5°C. Die Inkubationslösung enthielt: Bleiacetat, Natriumacetat, Magnesiumchlorid, Dinatrium-Adenosintriphosphat, Tiron. pH 7,2. Inkubationszeit 60 Min. bei 37°C. Farbentwicklung Ammonsulfit. Eindeckung mit Eukitt nach Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe.

Monoaminoxidase (MAO): Methode nach GLENNER und Mitarb. (37)

Kryostatschnitte 16 /^u. Die Inkubationslösung enthielt: Tryptaminhydrochlorid, Natriumsulfat,

Nitro-Blue-Tetrazolium, pH 7.6. Die Inkubationszeit betrug 120 Min. bei 37° C. Fixation in 10%igem neutralem Formalin. Eindeckung erfolgte mit Glyceringelatine.

Hydroxybuttersäuredehydrogenase (HbDH): Methode nach NACHLAS u. Mitarb., PEARSE (70)

Kryostatschnitte 16/^u. Die Inkubationslösung enthielt: Hydroxybuttersäure-Natriumsalz, DPN, Natriumacetat, Magnesiumchlorid, Kobaltchlorid, pH 7.0. Die Inkubationszeit betrug 60 Min. bei 37° C. Fixation in 10%igem neutralem Formalin. Eindeckung erfolgte mit Glyceringelatine.

Lactatdehydrogenase (LDH): Methode nach NACHLAS und Mitarb., PEARSE (70)

Kryostatschnitte 60 /^u. Die Inkubationslösung enthielt: DPN, Nitro-Blue-Tetrazolium, Natriumlactat, pH 7.4. Inkubationszeit: 90 Min. bei Zimmertemperatur. Fixation in 10%igem neutralem Formalin. Eindeckung erfolgte mit Glyceringelatine.

Malatdehydrogenase (MDH): Methode PEARSE (70)

Kryostatschnitte 16 /^u. Die Inkubationslösung enthielt: L-Äpfelsäure, DPN, Natriumcyanid, Magnesiumchlorid, Nitro-Blue-Tetrazolium, pH 7.0. Die Inkubationszeit betrug 60 Min. Fixation in 10%igem neutralem Formalin. Eindeckung erfolgte mit Glyceringelatine.

Auswertung:

Die Auswertung der Präparate erfolgte mit Hilfe eines Lichtmikroskops. Es wurden sieben Grade des histochemischen Reaktionsausfalles zugrunde gelegt. Dazu wurden für jedes Enzym Leerwerte angefertigt, die als Minimum der histochemischen Reaktion zu werten sind. Davon ausgehend, wurden zu Beginn jeder quantitativen Enzymauswertung sieben Präparate herausgesucht, die den einzelnen Bewertungsstufen deutlich zugeordnet werden konnten. Diese wurden während der Auswertung als Vergleichspräparate mitgeführt. Dem Auswertenden wurden die Schnitte in unbekannter Reihenfolge und ohne Signatur gereicht, um eine Beeinflussung auszuschalten. Anstelle der üblichen histochemischen Bewertung (0 bis +++), wurde folgende Reaktionsskala erstellt und mit arabischen Ziffern versehen:

- 1 = keine Reaktion (-)
- 2 = sehr schwache Reaktion (+)
- 3 = schwache Reaktion +
- 4 = schwache bis mässige Reaktion ++
- 5 = mässige Reaktion ++
- 6 = mässige bis starke Reaktion +++
- 7 = starke Reaktion +++

Ein kurzer Hinweis zur Auswertungsmethode sei erlaubt. RASSNER und Mitarb. (79) geben an, dass eine genauere Korrelation zwischen biochemisch gemessenen Enzymaktivitäten und dem subjektiv

geschätzten histochemischen Reaktionsausfall vor allem in den mittleren Bereichen der Enzymaktivität nicht zu erbringen sei. Die maximalen und minimalen Werte einer biochemischen Messung sind jedoch durchaus mit einer histochemischen zur Deckung zu bringen, so dass quantitative Aussagen mit subjektiv geschätzten histochemischen Reaktionsstärken zumindest als grobe Schätzung und bei Beschränkung auf eine Verlaufskontrolle möglich sind.

Statistische Methoden:

Nach der visuellen mikroskopischen Auswertung der histochemischen Präparate, wurden die Bewertungsstufen auf Lochkarten übertragen. Mit Hilfe der einfachen Datenbeschreibung wurde für jedes Enzym, pro Darmabschnitt und Zeitpunkt, die Anzahl der ausgewerteten Schnitte n , der Mittelwert $\bar{x}$, die Standardabweichung s errechnet. Die Ergebnisse sind in den Tabellen des statistischen Anhangs Nr. I und V angegeben.

Beispiel:

G-6-P, Tabelle I, Versuch I, 8 Uhr, Duodenum,
Kontrolltiere: $n = 12$, $\bar{x} = 6.3$, $s = 0.49$,
G-6-P, Tabelle I, Versuch I, 8 Uhr, Duodenum,
Versuchstiere: $n = 12$, $\bar{x} = 6.3$, $s = 0.49$,
G-6-P, Tabelle V, Versuch II, Duodenum, 8 Uhr,
Versuchstiere: $n = 20$, $\bar{x} = 5.1$, $s = 0.36$

Die Mittelwerte zeigten zum Teil erhebliche Unterschiede. Zur Signifikanzprüfung wurde die einfache Varianzanalyse herangezogen, KOLLER (55). Sie gestattet nur eine pauschale Aussage, ob zwischen den geprüften Mittelwerten ein mehr als zufälliger Unterschied besteht, nicht aber zwischen welchen diese Differenz ist. Um aussagen zu können, zwischen welchen Zeitpunkten und Darmabschnitten signifikante oder auffällige Unterschiede bestehen, war es nötig, Kontraste zu bilden. Mit Hilfe des Scheffé-Tests kann man feststellen, welche Mittelwerte signifikante oder auffällige Unterschiede ergeben.

Die Ergebnisse sind in den Tabellen II, III, IV, IVa, VI, VII zusammengefasst.

Es werden angegeben:

- ++ = signifikanter Unterschied = 1% Überschreitungswahrscheinlichkeit
- + = auffälliger Unterschied = 5% Überschreitungswahrscheinlichkeit
- = kein signifikanter oder auffälliger Unterschied.

Erläuterungen zu den Tabellen des Anhangs:

Die Tabellen sind für jedes untersuchte Enzym mit römischen Ziffern von I bis VII durchnummeriert und fortlaufend mit einer Seitenzahl versehen.

Tabelle I enthält die einfache Datenbeschreibung mit Fallzahl (n), Mittelwert ($\bar{x}$) und Standardabweichung (s) für Kontroll- und Versuchsgruppe von Versuch I.

Tabelle II enthält die Ergebnisse der einfachen Varianzanalyse für Versuch I. Jeder der sechs Darmabschnitte wurde geprüft auf das Vorhandensein von Unterschieden zwischen den Mittelwerten der Kontrollgruppe zu acht Zeitpunkten. Ebenso wurde mit der Versuchsgruppe verfahren. - Die dazugehörigen Scheffé-Tests sind für die Kontrollgruppen (K) in Tabelle IV, für die Versuchsgruppen in Tabelle IVa enthalten.

Tabelle III enthält das Ergebnis der einfachen Varianzanalyse für Versuch I. Es wurden geprüft die Unterschiede zwischen den Mittelwerten jeweils des gleichen Zeitpunktes und Darmabschnittes der Kontroll- und Versuchsgruppe. Der Scheffé-Test entfällt hier.

Tabelle IV enthält die Ergebnisse der Scheffé-Tests zur einfachen Varianzanalyse für die Kontrollgruppe von Versuch I, Tabelle II.

Tabelle IVa enthält die Ergebnisse der Scheffé-Tests zur Varianzanalyse für die Versuchsgruppe von Versuch I, Tabelle II.

Tabelle V enthält die einfache Datenbeschreibung mit Fallzahl (n), Mittelwert ($\bar{x}$) und Standardabweichung (s) für die Versuchsgruppen von Versuch II.

Tabelle IV enthält die Ergebnisse der einfachen Varianzanalyse für Versuch II. Jeder der sechs Darmabschnitte wurde geprüft auf das Vorhandensein von Unterschieden zwischen den Mittelwerten der acht Zeitpunkte. Die dazugehörigen Scheffé-Tests sind in Tabelle VII enthalten.

Tabelle VII enthält die Ergebnisse der Scheffé-Tests zur einfachen Varianzanalyse für die Versuchsgruppe von Versuch II, Tabelle VI.

III. Bisherige Untersuchungen zur Histochemie und Funktion der dargestellten Enzyme

Saure Phosphatase:

Die unspezifische saure Phosphatase ist der Gruppe der Hydrolasen zuzuordnen. WALKER (101) definierte die SPH als Phosphomonoesterase mit optimalen Aktivitäten bei einem pH unter 7, in Mehrzahl der Fälle zwischen 3,8 und 6,0. Anzutreffen sei dies fast in allen tierischen Zellen. MARTLAND und Mitarb. (62) erbrachten ihren Nachweis in Erythrocyten, DENUTH (22) im menschlichen Organismus. SKELDON und Mitarb. (83) waren in der Lage, sie mit dem Elektronenmikroskop darzustellen. RUTENBERG und SELIGMANN (81) fanden

die SPh im Duodenum und Ileum. Ihre Lokalisation erstreckte sich dort über das Darmepithel wie auch über die Zellen der Brunner'schen Drüsen und der Krypten. Positive Resultate erbrachten auch die Paneth'schen Zellen, die Lymphknoten des Ileums sowie auch der Meissner'sche und Auerbach'sche Plexus. Nach de DUVE (28) ist die SPh hauptsächlich in subzellulären Zellorganellen, den sogenannten Lysosomen lokalisiert. JERVIS (50) fand Aktivitäten im Epithel des Rattendünndarms, mit Bevorzugung des Bürstensaums, dem Golgiapparat und den Zellmembranen; daneben noch in den Paneth'schen Zellen am Boden der Krypten und im apikalen Cytoplasma der Zellen im unteren Ileum. Diese Ergebnisse bestätigen die Arbeiten von BOURNE (9), BIEMPICA und Mitarb. (7), DEANE und DEMPSEY (19), JOHNSON und KUGLER (51) und VILAR und BIEMPICA (100). TAPPEL und HSU (97) entdeckten, gestützt auf experimentell ermittelte Daten von SHNITKA (84), welcher auch im Colonepithel bescheidene Aktivitäten fand, wie auch DEMPSEY und DEANE (21), STRAUSS (91), SHELDON und Mitarb. (83) und PADYKULA und Mitarb. (69), in subzellulären Mucosafraktionen i.e. in Zell- und Zellkerntrümmern sowie auch im Überstand, Aktivitäten der SPh.

Eine fast gleichmässige Verteilung fand sich in den Kernen, in den sogenannten "schweren" und "leichten" Mitochondrien und Mikrosomen. Zu ähnlichen Ergebnissen wie JERVIS (50), SHNITKA (84)

gelangten auch RIECKEN und Mitarb. (80). Sie fanden spezifische Enzymaktivitäten im Bürstensaum des oberen Dünndarms, in den Paneth'schen Zellen und in den Makrophagen, sowie gehäuftes Vorkommen im Golgiapparat. Eine andere Arbeit von RIECKEN zusammen mit PEARSE (71) demonstriert grosse Aktivitäten der SPh in der Granula des apikalen Bezirks der resorbierenden Dünndarmzelle.

Glucose-6-Phosphatase:

HERS und de DUVE (43) waren noch nicht in der Lage, den Nachweis für die Existenz von G-6-P im Rattendarm zu erbringen. WEBER und CANTERO (102), die die G-6-P in ihrer Funktion als Hydrolysator des Glucose-6-Phosphates zu Glucose beschrieben und dabei auf Arbeiten von FANTL und Mitarb. (32), SWANSON (94) und de DUVE u. Mitarb. (27) verwiesen, fanden die höchsten Aktivitäten in der Leber und Niere. Bei Glykogenspeicherkrankheiten fehlte die G-6-P gänzlich. CHIQUOINE (13) postulierte, dass die G-6-P nur da im Körper aufzufinden sei, wo Glucose aus dem Gewebe in den Blutstrom überwechselt. Im Epithel des Mäusedarms wie auch in den am Blutstrom gelegenen Zellen konnte er G-6-P nachweisen. RAGGI (77) konnte zwar die G-6-P im Darm des Schafes nachweisen,

fand aber im Vergleich zur Leber nur geringes Vorkommen. RIECKEN und Mitarb. (80) fanden, dass die G-6-P, welche sie mikrosomales Enzym nannten, im Epithel des oberen Rattendünndarms schwache Aktivität zeigt, während sie abwärts zum Ileum hin fast völlig verschwindet. Die starke Anfärbung des Bürstensaums soll nach RIECKEN und Mitarb. (80) und nach CHIQUOINE (13) durch die Aktivität der APH bedingt sein, die ebenfalls in der Lage ist, das Substrat für G-6-P zu spalten. Unterschiedliche morphologische Befunde spiegeln sich wider in den verschiedenen Theorien über die Funktion der G-6-P im Stoffwechsel. SOLS (87) und WILSON und CRANE (104) zeigten, dass der aktive Transport der Hexosen völlig unabhängig von Phosphorylierungssystemen ist, d.h., dass für die Darmpassage keine G-6-P benötigt wird. Diese Aussagen widerlegen die Postulate CHIQUOINES (13) und anderer Autoren.

ÖCKERMANN (68) hält andere Aufgabenbereiche der G-6-P für gegeben: nämlich die Spaltung von Glucose-6-Phosphat, gebildet aus Glycogen oder aus der umgekehrten Glycolyse, zu Glucose und Phosphat. Nach GINSBURG und HERS (36) hat die G-6-P eine weitere Funktion. Bei der Umwandlung von Fructose zu Glucose über Fructose-I-Phosphat, Triosephosphat, ist der letzte Schritt die Aufspaltung von Glucose-6-Phosphat.

Adenosintriphosphatase:

Seit der Entdeckung einer ATPase, SKOU (85), die durch Natrium und Kalium aktivierbar ist, diskutierte man deren mögliche Funktion als Energielieferant zum intra- und interzellulären Natriumtransport. Zusammen mit diesen Kationen werden nach CRANE (17) auch weitere Enzyme und Moleküle quasi adhäsiv mittransportiert. Dieser aktiver Transport findet oft gegen einen Konzentrationsgradienten vom Darmlumen in die Darmwand statt.

RIECKEN und Mitarb. (80) fanden im Darm besonders hohe Aktivitäten der ATPase im Bürstensaum, geringere in den Mitochondrien. BERG und CHAPMANN (5), PEARSE und RIECKEN (71) wiesen beträchtliche Aktivitäten der ATPase in den Mitochondrien des Rattendarms nach. PLANTEYDT und WILLIG-HAGEN (73) fanden die ATPase in der menschlichen Magenschleimhaut. Die Autoren bezweifelten jedoch die Richtigkeit ihrer Resultate, da die gewählte Methode (nach PADYKULA und HERMANN) besonders in den Mitochondrien nicht spezifisch für die ATPase sei und so eine Mitreaktion anderer Enzyme verfälschend wirken könne.

Monoaminoxidase:

COTZIAS und de DOLE (15/16) konnten die MAO in der Rattenleber, besonders in den Mitochondrien nachweisen. BHAGVAT u. Mitarb. (6) fanden, dass

die MAO im Intestinaltrakt als Agens der Entoxifikation der dort auftretenden Amine diene. WOHLRAB (106) untersuchte die Lokalisation der MAO im Duodenum und verifizierte sie am apikalen Pol des Zytoplasmas der Epithelzellen. Die Zellkerne zeigten keine Reaktion. JERVIS (50) untersuchte verschiedene Spezies auf ihren Gehalt an MAO im Intestinaltrakt und fand beim Meerschweinchen und Kaninchen Aktivitäten in den Epithelzellen der Villi, beim Kaninchen des weiteren noch in den Zellen am Boden der Krypten, vermutlich den Paneth'schen Zellen. Beide Spezies zeigten einen abnehmenden Konzentrationsgradienten vom Duodenum zum Ileum. Im Rattendarm fand sich nur geringe Aktivität. LEVINE und SJOERDSMA (59) verglichen die Aktivität der MAO im Darm von Menschen und Ratten und fanden bei der Ratte die fünffache Aktivität. PENTILLÄ (72) untersuchte die Darmwand des Duodenums der Ratte auf ihren Gehalt an MAO. Schwach positive Reaktionen fand er in der Muscularis interna und externa, um den Meissner'schen und Auerbach'schen Plexus, im Epithel der Brunner'schen Drüsen und in den Lieberkühn'schen Krypten. Erwähnenswert erscheinen weitere Arbeiten über die MAO von DAVIDSON (18), über die MAO als Inaktivator biogener Amine, EPPS (31) über die Aktivität der MAO im Darm und EDER (29) über die MAO als Schutzbarriere gegen die im Darm gebildeten Monoamine.

Dehydrogenasen: Hydroxybuttersäuredehydrogenase,
Lactatdehydrogenase, Malatdehydro-
genase

Diese Enzyme sind, bei Anwendung derzeitiger histochemischer Methoden, charakterisiert durch einen blauschwarzen Formazanniederschlag. Die Wichtigkeit ihrer Darstellung wird durch ihre Rolle im Stoffwechsel unterstrichen. So sind die Funktionen der MDH im Zitratzyklus, die der LDH bei der anäroben Glycolyse und die der HbdH im Fettsäurestoffwechsel gegeben.

RIECKEN und Mitarb. (80) erbrachten den Nachweis für MDH, LDH und HbdH im Darm und fanden maximale Aktivität in den supra- und infranukleären Zonen der Epithelzellen, geringere Aktivitäten in den Paneth'schen Zellen und in der Lamina propria mucosa. PLANTEYDT und WILLIGHAGEN (73) beschrieben die LDH und die HbdH im menschlichen Magen. JERVIS (50) untersuchte die DPN-Diaphorase im Rattendarm. Besonders hohe Aktivitäten fanden sich in den Epithelzellen, dort vor allem in den basalen und apikalen Regionen. Die Zellkerne und -membranen zeigten keine positiven Reaktionen. Die Aktivität nahm in den Krypten von kranial nach kaudal zu und blieb in den Zotten stark und gleichmässig. Sinkende Tendenz zeigte sich im Duodenum zum Ileum. BIEMPICA und Mitarb. (7) bestätigten diese Befunde. SPENCER und Mitarb. (88) wiesen die LDH im Rattendünndarm nach und fanden ebenfalls einen Aktivitätsabfall von kranial nach kaudal.

IV. Ergebnisse eigener Untersuchungen

A. Morphologische Befunde

Saure Phosphatase: Von diesem Enzym konnten nur die Präparate von Versuch II ausgewertet werden. Als Kontrollgruppe zum morphologischen Vergleich wurden vier Ratten verwendet, die um 16.00 Uhr getötet worden waren.

Bei den Kontrolltieren ist der Reaktionsausfall in allen Darmabschnitten sehr deutlich, am stärksten jedoch im Duodenum. Hier zeigt sich die stärkste Reaktion im supranukleären Anteil der Zottenepithelzellen, wobei die Topik im Golgi-Feld den Microvilli entspricht. Infolge der starken Reaktion fließen diese beiden Aktivitätarten meist ineinander über, doch auch deutliche Abgrenzungen sind gelegentlich zu erkennen. Auch die Epithelzellkerne zeigen eine deutlich positive Reaktion. Während die positive Reaktion im Bereich des Microvillisaumes und im supranukleären Zytoplasma an der Zottenbasis, zeigen die Kerne bis zur Kryptenbasis fast unvermindert starke Anfärbung. Neben der Reaktion in den Epithelzellen finden sich auch in den mesenchymalen Zellen des Zottenstromas granuläre Präzipitate, die meist in der Umgebung der ebenfalls schwach positiven Kerne lokalisiert sind. In den Darmabschnitten unterhalb des Duodenums vermindert sich die supranukleäre Reaktion der Zottenepithelien kontinuierlich, während in den Epithelkernen und Stromazellen die Aktivität

fast unvermindert erhalten bleibt. Im Colon ist die Reaktion der Kerne der Epithel- und der Mesenchymzellen noch deutlich ausgeprägt.

Bei den Untersuchungen zur Tagesrhythmik (Versuch II) entspricht der Reaktionsausfall der Tiere, die um 16.00 Uhr getötet wurden, in qualitativer und quantitativer Hinsicht in allen Einzelheiten dem der Kontrolltiere. (Abb. 1 a - c). Dieser Befund erlaubt somit gleichzeitig die Aussage, dass am dritten Hungertag im Vergleich zu den nicht hungernden Kontrolltieren keine wesentlichen Veränderungen im Enzymverteilungsmuster aufgetreten sind. Bei allen Tieren, die zu anderen Zeitpunkten getötet worden sind, ist nicht nur die Stärke des Reaktionsausfalles geringer, sondern es treten auch gewisse qualitative Veränderungen in Erscheinung. So zeigen die Zellkerne zu keinem anderen Zeitpunkt eine so ausgeprägte Reaktion, besonders im Bereich der Krypten. Daneben vermindert sich auch die Aktivität im Bereich der Stromazellen sehr deutlich und in den Epithelzellen der Zotten vor allem im supranukleären Cytoplasma (Golgi-Feld), weniger im Bereich des Bürstensaums (Abb. 2 a - b). Eine vergleichende Wertung der Stärke des histochemischen Reaktionsausfalles in den Epithelzellen zu den verschiedenen Zeitpunkten findet sich bei den statistischen Ergebnissen.



Abb. 1a - c: Darstellung der SPh im Duodenum (a), unteren Jejunum (b) und unteren Ileum (c) bei einem Versuchstier zur Tagesrhythmik (Versuch II) um 12 Uhr. x 90

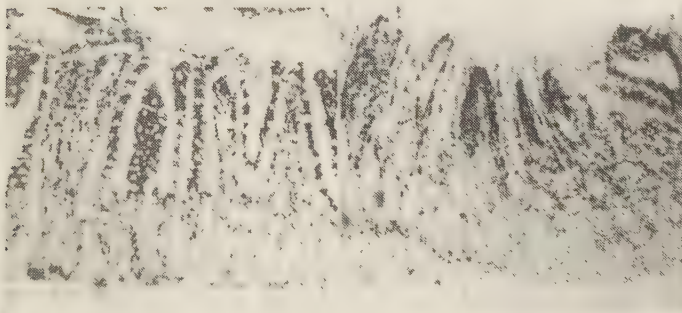


Abb. 2 a und b: Darstellung der SPh im unteren Jejunum (a) und unteren Ileum (b) um 4 Uhr in Versuch II. x 90

Glucose-6-Phosphatase: Bei den Kontrolltieren ist die Reaktion im allgemeinen in den ersten beiden Darmabschnitten deutlich ausgeprägt, im unteren Jejunum nur noch schwach. Nur in Einzelfällen zeigt sich auch noch im oberen Ileum eine ganz schwach positive Reaktion. In allen Darmabschnitten finden sich die positiven Bleipräzipitate nur im Bereich der Epithelzellen und zwar in etwa gleichbleibender Stärke bis zur Zottenbasis. Die Kryptenepithelien sind völlig negativ. (Abb. 3 a - c). Die histotopochemische Verteilung der Präzipitate in den Epithelzellen selbst, stellt sich folgendermassen dar: ein breiter Streifen in der äusseren Zellspitze entspricht dem Mikrovillisaum. Daneben erstreckt sich eine schmale streifenförmige Reaktion entlang der lateralen Zellmembran. Im Zytoplasma findet sich eine schwache diffuse Reaktion. Die basale Zellmembran ist negativ. (Abb. 5)

Bei den Tieren mit fortschreitendem Hungerzustand Versuch I) lassen sich gegenüber den Kontrolltieren folgende Veränderungen erkennen: bereits nach zwei Tagen ist die Reaktion vor allem in den Epithelien der äussersten Zottenspitzen des Duodenums stark abgefallen und z.T. völlig negativ. In den übrigen Epithelzellen ist die Reaktion im Bereich des Mikrovillisaumes noch stark positiv, entlang der lateralen Zellmembran und im Zytoplasma der Epithelzelle ist jedoch keine positive Reaktion zu erkennen. Im Bereich der Zottenbasis erstreckt sich die Reaktion über die Zottenbasis hinweg auf die Epithelzellen.



Abb. 3a - c: Darstellung der G-6-P bei einem Kontrolltier im Duodenum (a), oberen Jejunum (b) und unteren Jejunum (c). x 90.

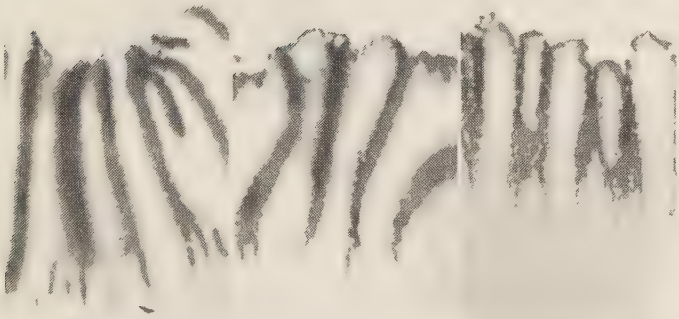


Abb. 4a - c: Darstellung der G-6-P bei einem Tier im fortschreitenden Hungerzustand (Versuch I) nach 3 Tagen Hunger im Duodenum (a), oberen Jejunum (b) und unteren Jejunum (c). x 90

des Kryptenhalses. Das gleiche morphologische Bild findet sich auch noch im oberen Jejunum, während im unteren Jejunum keine Reaktion in den Zottenspitzen vorhanden ist, und auch im Kryptenhals keine spezifische Anfärbung mehr zu erkennen ist. Bei einigen Tieren, die zwei Tage gehungert haben, sind die Präzipitate im unteren Jejunum ähnlich stark, wie die entsprechenden Kontrollen; auch im oberen Ileum findet sich noch eine gering positive Reaktion. (Abb. 4 a - c, 5). Eine genaue Beschreibung der quantitativen Veränderungen des histochemischen Reaktionsausfalles, also der histochemischen Enzymaktivität, im Verlauf des fortschreitenden Hungerzustandes wird bei der statistischen Auswertung angegeben.

Bei den Untersuchungen zur Tagesrhythmik (Versuch II) entsprechen die morphologischen Befunde den im vorangehenden Abschnitt dargelegten Ergebnissen. Die Maxima und Minima des histochemischen Reaktionsausfalles werden in der statistischen Auswertung beschrieben.

Adenosintriphosphatase: Im Darmepithel der Kontrolltiere ist ein starker Abfall vom Duodenum zum Ileum zu verzeichnen, im unteren Ileum ist keine Anfärbung mehr zu erkennen. In den Epithelzellen selbst, ist die Reaktion hauptsächlich an der Spitze positiv, bei schwachem



Abb. 5:

G - C - P im Duodenum eines Kontrolltieres bei stärkerer Vergrösserung. x 225

Ausfall allein auf dem Bürstensaum beschränkt. Die Kerne zeigen sich leicht positiv. Von der Zottenspitze bis zur Basis ist die Reaktion kaum abgeschwächt. Das Kryptenepithel zeigt, ausser in den Zellkernen, keinerlei Anfärbung. Ausser den Epithelzellen lässt sich in den Endothelien der Arteriolen und grösseren Arterien der Submucosa und Muscularis Aktivität erkennen.

Bei den Tieren mit fortschreitendem Hungerzustand Versuch I) zeigen sich nach drei Tagen die deutlichsten Unterschiede gegenüber den Kontrolltieren, die nicht nur in quantitativen Änderungen der histochemischen Aktivität bestehen, wie sie in den statistischen Ergebnissen beschrieben werden, sondern auch in der topochemischen Verteilung. So verschwindet vor allem die positive Reaktion in den Zellkernen und Gefässe gelangen nur noch vereinzelt zur Darstellung.

Bei den Untersuchungen zur Tagesrhythmik (Versuch II) scheinen in den Epithelzellen gewisse Schwankungen in der Stärke des histochemischen Reaktionsausfalles vorzuliegen, deren Maxima und Minima bei den statistischen Ergebnissen beschrieben werden.

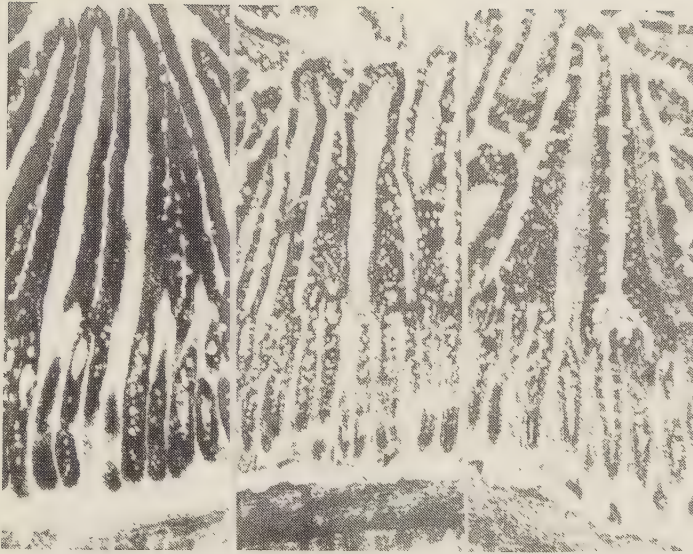


Abb. 6 a - c: Darstellung der LDH im Duodenum (a), unteren Jejunum (b) und unteren Ileum (c) eines Kontrolltieres. x 90

Dehydrogenasen: Die in dieser Arbeit untersuchten Dehydrogenasen: MAO, HbDH, LDH, MDH zeigen in allen Einzelheiten einen identischen histochemischen Reaktionsausfall nicht nur bei den Kontrolltieren, so dass sie gemeinsam abgehandelt werden können.

Bei den Kontrolltieren fällt die histochemische Aktivität in allen Epithelzellen, sowohl der Zotten, als auch der Krypten, stark positiv aus. Daneben zeigen auch die Muscularis sowie der Meissner'sche und Auerbach'sche Plexus starke spezifische Reaktionen. In den verschiedenen Darmabschnitten fällt die Aktivität in den Epithelzellen von proximal nach distal nur zögernd ab, so dass auch im Colonepithel die Reaktion deutlich positiv ist. (Abb. 6 a - c, Abb. 9 c). In der Muscularis und in den nervösen Plexus hingegen zeigt sich von proximal nach distal kein Aktivitätsabfall. (Abb. 8 b). Im Zottenstroma findet man gelegentlich eine schwach ausgeprägte faserförmige Reaktion, die wahrscheinlich einzelnen glatten Muskelfasern entspricht. Die Topik der Formazankristalle in den Epithelzellen ist sehr deutlich: Eine breite supranukleäre Aktivitätszone, eine schmale infranukleäre Aktivitätszone und sehr schmale paranukleäre Aktivitätsbrücken (Abb. 8 a).

Bei den Versuchstieren mit fortschreitendem Hungerzustand (Versuch I) sind besonders nach drei bis fünf Tagen Hunger die morphologischen Unterschiede zu den Vergleichstieren stark ausgeprägt.

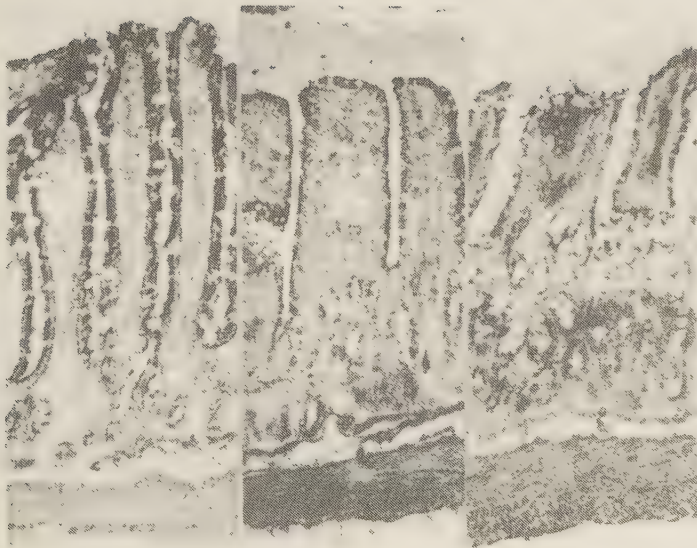


Abb. 7a - c: Darstellung der LDH bei einem Tier im fortschreitenden Hungerzustand (Versuch I) nach 5 Tagen Hunger im Duodenum (a), unteren Jejunum (b) und unteren Ileum (c). x 90

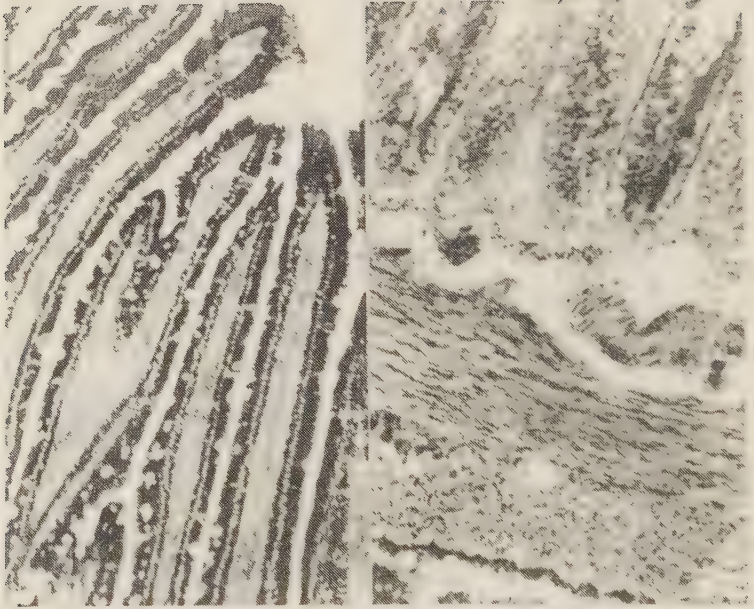


Abb. 8a und b: Lokalisation der LDM in den Zottenepithelien des Duodenum (a) und der Muscularis und den nervösen Plexus (b) bei einem Kontrolltier. x 200

Die Stärke des Reaktionsausfalles ist allgemein deutlich schwächer geworden. (Abb. 7 a - c). Von dieser Abschwächung sind jedoch besonders stark die Epithelzellen der Krypten betroffen, so dass hier fast keine Aktivität mehr nachweisbar ist. Auch im Bereich der Muscularis ist ein sehr deutlicher Abfall der Aktivität zu verzeichnen. In den Epithelzellen der Zotten ist von der Aktivitätsminderung besonders die infranukleäre, weniger die supranukleäre Aktivitätszone betroffen. Im unteren Ileum und im Colon ist der Aktivitätsabfall etwas weniger stark ausgeprägt, im Vergleich zu den Kontrolltieren jedoch noch deutlich wahrnehmbar. (Abb. 9 a und b).

Bei den Untersuchungen zur Tagesrhythmik (Versuch II), lassen sich bei rein morphologischer Betrachtung zu verschiedenen Tageszeiten unterschiedlich starke Reaktionsausfälle wahrnehmen, deren Maxima und Minima im statistischen Teil dargelegt werden. Veränderungen in der topochemischen Verteilung der Reaktionsausfälle sind zu den verschiedenen Tageszeiten nicht wahrnehmbar.

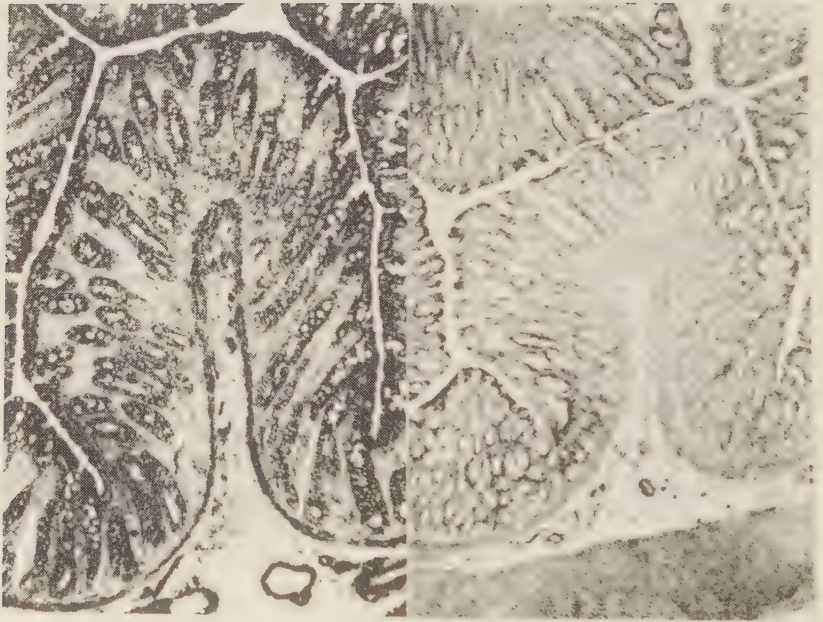


Abb. 9a und b: Darstellung der LDL im Colon eines Kontrolltieres (a) und nach 5 Tagen Hunger (b). x 90

V. Ergebnisse der statistischen Auswertung

In diesem Teil der Arbeit werden die Ergebnisse der statistischen Auswertung der visuell ermittelten Werte des histochemischen Reaktionsausfalls pro Enzym und Versuchsgruppe beschrieben. Diese statistischen Werte ergeben einen Massstab für die relative Stärke der Enzymaktivitäten, d.h. es kann ein Anstieg oder Abfall des histochemischen Reaktionsausfalls in den verschiedenen Darmabschnitten, zu verschiedenen Tageszeiten oder im fortschreitenden Hungerzustand ermittelt werden. Mit der statistischen Auswertung sollen in Versuch I (fortschreitender Hungerzustand) vor allem Veränderungen des histochemischen Reaktionsausfalls in Abhängigkeit von der Zeitdauer des Hungerns und im Vergleich zu den nicht hungernden Kontrolltieren erfasst werden. In Versuch II (Untersuchung der Tagesrhythmik) sollen bei den, zu verschiedenen Tageszeiten nach drei Tagen Hunger getöteten Tiere, Maxima und Minima des histochemischen Reaktionsausfalls erfasst werden, um damit eine Aussage über circadiane Aktivitätsschwankungen der Enzyme machen zu können.

Saure Phosphatase (s. Tabellen Seite 1 - 3):

Bei der SPh wurden nur Untersuchungen über tagesrhythmische Schwankungen (Versuch II) angestellt. Die einfache Varianzanalyse, Tab. VI, Seite 2 des stat. Anhangs, ergibt signifikante Unterschiede

für alle Darmschlingen. Die Scheffé-Tests, Tab. VII, Seite 3 d.s.A., zeigen für folgende Mittelwertsgruppen: im Duodenum ein Maximum um 16.00 Uhr, signifikant gegen die Werte von 8.00 Uhr, 12.00 Uhr und 20.00 Uhr und auffällig zu unterscheiden gegen 24.00 Uhr. Das Minimum liegt bei 20.00 Uhr mit signifikanten Unterschieden gegen 4.00 Uhr, 16.00 Uhr und 24.00 Uhr. Das Jejunum zeigt im Mittel geringere aber parallel der Tagesschwankung des Duodenums verlaufende Wertungen. Im oberen Ileum ist der 16.00 Uhr-Gipfel weniger ausgeprägt, um so mehr doch das Minimum um 20.00 Uhr, welches sich signifikant von allen anderen Tageszeiten unterscheidet. Im oberen Ileum ist der 16.00 Uhr-Gipfel signifikant unterschieden gegen 8.00 Uhr, 12.00 Uhr und 20.00 Uhr. Das Colon zeigt ein Maximum um 24.00 Uhr, signifikant unterschieden gegenüber allen anderen Tageszeiten ausser 16.00 Uhr.

Zusammenfassung: Mit Ausnahme des Colons liegen die Maxima im allgemeinen bei 16.00 Uhr, die Minima bei 20.00 Uhr. Der eindeutige Verlauf lässt Rückschlüsse auf eine circadiane Periodik zu.

Glucose-6-Phosphatase (s. Tabellen Seite 4 - 11)

Versuch 1: Innerhalb der Kontrollgruppen erbringen die Scheffé-Tests einige signifikante und auffällige Unterschiede, mit Ausnahme vom oberen Jejunum und oberen Ileum. Unter idealen experimentellen Verhältnissen dürften hier eigentlich keine signifikanten

Unterschiede auftreten. Doch natürliche Varianten und zu geringe Fallzahlen können die Homogenität einer Gruppe zerstören, und sie erfahren weitere Profilierung durch zu geringe Fallzahlen.

Die Scheffé-Tests, angewandt für die Versuchsgruppe, zeigen signifikante und auffällige Unterschiede nur in den oberen vier Darmschlingen und dort vorzugsweise bei 8 Std. Hunger, gegenüber allen anderen Zeitpunkten des fortschreitenden Hungerzustandes. Die Varianzanalyse zwischen der Kontroll- und Versuchsgruppe zeigt besonders in den proximalen Darmabschnitten ab 16 Std. Hunger auffällige und signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen.

Versuch II: Bei Auswertung der Mittelwertsgruppen in Versuch II ergeben sich signifikante Unterschiede für alle Darmschlingen mit Ausnahme des unteren Ileums und des Colons. Die Scheffé-Tests erbringen für das Duodenum ein Maximum um 16.00 Uhr, signifikant gegenüber 12.00 Uhr und 20.00 Uhr. Im oberen Jejunum ist ein signifikanter Unterschied zwischen dem Maximum um 16.00 Uhr und dem Minimum um 12.00 Uhr.

Zusammenfassung: Für den Versuch I ergeben sich kontinuierliche Aktivitätsabnahmen bei fortschreitendem Hungerzustand für die ersten vier proximalen Darmschlingen schon nach 16 Std. Hunger.

Die Ergebnisse von Versuch II lassen einen Tagesrhythmus nicht eindeutig erkennen; die Maxima ergeben sich nur für die beiden ersten Darmschlingen um 16.00 Uhr.

Adenosintriphosphatase (s. Tabellen Seite 12-19)

Von allen untersuchten Enzymen weist die Gruppe der Kontrolltiere die grösste Homogenität auf. Die Varianzanalyse für die Gruppe der Versuchstiere zeigt signifikante Unterschiede für alle Darmschlingen. Die Scheffé-Tests ergeben für das Duodenum nach 8, 16 und 24 Stunden Hunger auffällige und signifikante Unterschiede gegenüber den nachfolgenden Hungerzeiten.

Die Varianzanalyse zwischen der Kontroll- und Versuchsgruppe ergibt für das Duodenum ab 16 Stunden Hunger signifikant niedrigere Werte der Versuchstiere gegenüber den Kontrolltieren. Die übrigen Darmschlingen zeigen von kranial nach kaudal abnehmend weniger signifikante und auffällige Unterschiede.

Versuch II: Die einfache Varianzanalyse liefert für alle Darmschlingen, mit Ausnahme des unteren Ileum, signifikante Unterschiede. Die Scheffé-Tests ergeben für das Duodenum ein Minimum um 8.00 Uhr, welches sich signifikant von den beiden Gipfeln um 16.00 Uhr und 24.00 Uhr unterscheidet. Auch bei den anderen Darmschlingen lassen sich tagesrhythmische Schwankungen kaum profilieren. Im oberen Jejunum sind gar nur die Werte von 24.00 Uhr zu 4.00 Uhr auffällig zu unterscheiden. Im unteren Jejunum hebt sich ein Minimum um 8.00 Uhr in drei Fällen signifikant, in einem Fall auffällig von den übrigen Tageszeiten ab. Ähnliche Betonung erfährt ein Minimum um 8.00 Uhr im oberen Ileum. Im unteren Ileum

und im Colon zeigen sich keine statistisch zu ermittelnden Unterschiede.

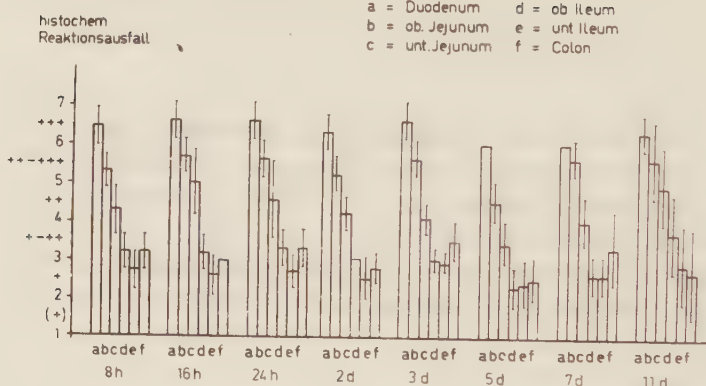
Zusammenfassung: Bei Versuch I sinkt die Aktivität bei den Hungertieren am stärksten im Duodenum. Bis zum fünften Hungertag ist der Abfall nahezu linear. Danach stagniert die Aktivität bis zum siebten Tag, um bis zum 11. Tag wieder leicht anzusteigen. Die Aktivitäten der übrigen Darmschlingen fallen nur leicht oder zeigen gar einheitliches Niveau.

Versuch II: Ein tagesrhythmischer Verlauf ist kaum erkennbar.

Monoaminoxidase (s. Tabellen 20-27)

Versuch I Die einfache Varianzanalyse weist für alle Darmschlingen der Kontrollgruppe signifikante Unterschiede auf, mit Ausnahme des unteren Ileums. (Abb. 10 a). Die Versuchsgruppe (Abb. 10 b) zeigt signifikante Unterschiede in allen Darmschlingen. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Hungerzeiten erbringen die Ergebnisse der Scheffé-Tests für das Duodenum der Versuchsgruppe. Diese Signifikanzen nehmen nach den kaudalen Darmschlingen hin ab. Bei dem Vergleich von Kontroll- und Versuchsgruppe zeigen sich bei letzterer Aktivitätsverluste in fast allen Darmschlingen, am besten ausgeprägt aber im Duodenum und Jejunum, wie aus der einfachen

Versuch I. Kontrolle: Monoaminoxidase



Versuch I. Versuchstiere Monnoaminoxidase



Abb. 10a

und b: Diagramm der Stärke des histochemischen Reaktionsausfalles der MAO bei den Kontrolltieren (a) und den Versuchstieren im fortschreitenden Hungerzustand (b). Die Höhe der Säulen entspricht den errechneten Mittelwerten mit eingezeichneter Standardabweichung. Auf den Ordinaten sind der Bewertung für die statistische Überprüfung des histochemischen Reaktionsausfalles (1-7) die histochemisch gebräuchlichen Stärkegrade (+ - +++) zugeordnet. Säulen ohne eingezeichnete Standardabweichung entsprechen Mittelwerten, die aus zwölf identischen Bewertungen errechnet wurden.

Varianzanalyse ersichtlich. Der geringste Abfall ist im Colon zu verzeichnen, wo ohnehin der Gehalt an MAO niedrig ist. In beiden Ileumabschnitten liegen die Wertungen der Tiere, die 8 Stunden Hunger ausgesetzt waren, auffällig höher als die der Kontrollen.

Versuch II: Die einfache Varianzanalyse erbringt für alle Darmschlingen signifikante Unterschiede. Der Scheffé-Test zeigt für das Duodenum zwischen dem Minimum um 4.00 Uhr und dem Gipfel um 8.00 Uhr und 24.00 Uhr signifikante Unterschiede. Doch liegt der Wert von 4.00 Uhr immer noch signifikant höher als der absolute Tiefpunkt von 20.00 Uhr. Die unteren Darmabschnitte zeigen nur geringe Schwankungen. Das obere Jejunum weist zwei kleinere Gipfel auf, einer bei 8.00 Uhr, der andere bei 24.00 Uhr, das untere Jejunum ein Minimum bei 20.00 Uhr. (Abb. 11).

Zusammenfassung: Bei Versuch I zeigen mit Ausnahme des Ileums fast alle Darmschlingen der Versuchstiere signifikant ~~niedrige~~ Werte als die der Kontrollen. In beiden Ileumabschnitten ist die Aktivität der MAO bei 8 Stunden Hunger signifikant höher als die der Kontrollgruppe. Insgesamt ist bei fortschreitendem Hunger ein Aktivitätsverlust ersichtlich.

Versuch II: Ausgeprägte circadiane Schwankungen zeigen sich nur im Duodenum mit Maxima um 8.00 Uhr und 24.00 Uhr und Minima um 12.00 Uhr und 20.00 Uhr. Die unteren Darmschlingen weisen nur geringe Schwankungen auf, die schwerlich einem Circadianrhythmus zugeordnet werden können.

Versuch II. Monoaminoxydase

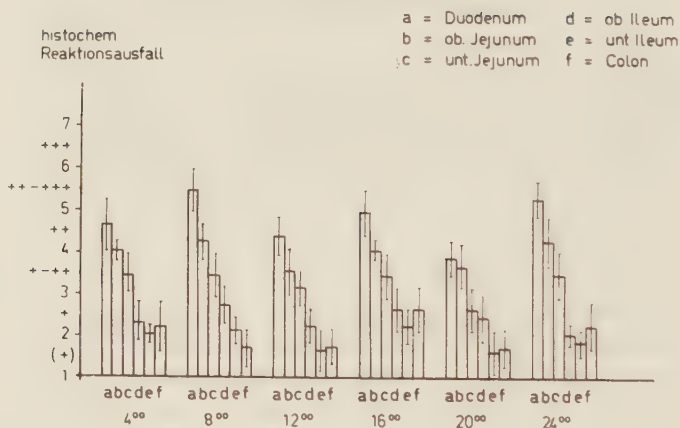


Abb.: 11:

Diagramm der Stärke des histochemischen Reaktionsausfalles der MAO bei den Untersuchungen zur Tagesrhythmik (Versuch II). Die Höhe der Säulen entspricht den errechneten Mittelwerten mit eingezeichneter Standardabweichung. Auf der Ordinate sind der Bewertung für die statistische Überprüfung des histochemischen Reaktionsausfalles (1-7) die histochemischen gebräuchlichen Stärkegrade (+ - +++) zugeordnet.

Säulen ohne eingezeichnete Standardabweichung entsprechen Mittelwerten, die aus zwanzig identischen Bewertungen errechnet wurden.

Hydroxybuttersäuredehydrogenase (s. Tabellen S. 28-35)

Bei der HbDH trifft für die Kontrollgruppe die Bestätigung der Nullhypothese im Duodenum zu, im oberen Jejunum finden sich eine, in den folgenden Darmabschnitten mehrere Ausnahmen. Die Werte der Hungertiere fallen im Duodenum, im oberen Jejunum und im Colon allmählich bis zum fünften und siebten Tag ab, wonach ein leichter Aufstieg zu verzeichnen ist. Im Gegensatz dazu, zeigen die Werte im unteren Jejunum und im gesamten Ileum gleichbleibende, bzw. leicht ansteigende Tendenz, bei fortschreitender Hungerzeit. In den ersten drei Darmabschnitten und im Colon sind alle Werte signifikant oder auffällig niedriger als die der entsprechenden Kontrollen, wie aus der einfachen Varianzanalyse ersichtlich ist.

Versuch II: Hier zeigt sich bei fast allen Darmschlingen ein kleiner Gipfel um 16.00 Uhr und ein Minimum um 9.00 Uhr. In den unteren Darmschlingen sind die Unterschiede zwischen den einzelnen Tageszeiten nur in wenigen Fällen signifikant. Im Duodenum und im oberen Jejunum zeigt, mit einer Ausnahme, das Minimum um 4.00 Uhr signifikante Unterschiede zu den übrigen Tageszeiten.

Zusammenfassung: Bei Versuch I zeigt sich sinkende Aktivität bei den Hungertieren in den ersten beiden Darmabschnitten. Im Gegensatz dazu zeigen die übrigen Darmteile gleichbleibende oder leicht ansteigende Tendenz. Versuch II: Nur im Duodenum sind circadiane Schwankungen ersichtlich.

Lactatdehydrogenase (s. Tabellen Seite 36 - 45)

Bei der LDH zeigen die Kontrolltiere keine statistisch relevanten Unterschiede untereinander, bezüglich des Jejunums. In den verbleibenden Darmabschnitten treten signifikante Unterschiede auf, jedoch meist nur ersichtlich aus der Varianzanalyse und selten in den Scheffé-Tests. Bei den Hungertieren zeigt sich in den ersten drei Darmabschnitten ein deutlicher Abfall bei 16 Stunden Hunger, gefolgt von einem leichten Anstieg, dem wiederum ein Abfall bis zum dritten Hungertag sich anschliesst. Bis ins obere Ileum liegen fast alle Werte gegenüber der Kontrollgruppe signifikant niedriger, wie die einfache Varianzanalyse zeigt. Die unteren Darmabschnitte weisen signifikante Unterschiede zu den Kontrollen erst nach längerer Hungerperiode^{auf}. Der Abfall, aber auch der Gehalt an Enzym ist hier geringer als in den oberen Darmanteilen.

Versuch II: Es ergibt sich für alle Darmschlingen ein Maximum um 24.00 Uhr und bei 16.00 Uhr und 12.00 Uhr ein Maximum im oberen Jejunum bzw. Colon. Bei fast allen Darmschlingen liegen die Bewertungen der anderen Tageszeiten deutlich niedriger, so dass ein zweigipfliger tagesrhythmischer Verlauf gut zu erkennen ist. Statistisch verifizierte Unterschiede kumulieren in den oberen Darmschlingen. (Abb. 12).

Zusammenfassung: Bei Versuch I, ist ein Aktivitätsverlust bei den Hungertieren in den oberen Darmabschnitten grösser als in den unteren Anteilen. Versuch II: Ein zweigipfliger tagesrhythmischer Verlauf ist bei allen Darmschlingen gut ersichtlich.

Versuch II. Lactat-Dehydrogenase

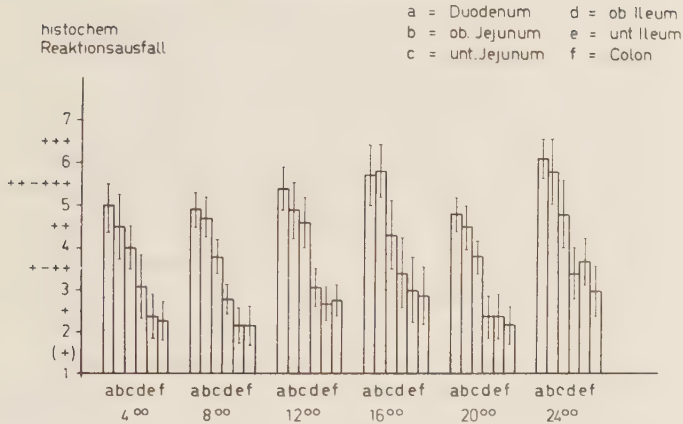


Abb.12: Diagramm der Stärke des histochemischen Reaktionsausfalles der LDH bei den Untersuchungen zur Tagesrhythmik (Versuch II). Die Höhe der Säulen entspricht den errechneten Mittelwerten mit eingezeichneter Standardabweichung. Auf der Ordinate sind der Bewertung für die statistische Überprüfung des histochemischen Reaktionsausfalles (1-7) die histochemisch gebräuchlichen Stärkegrade (+ - +++) zugeordnet.

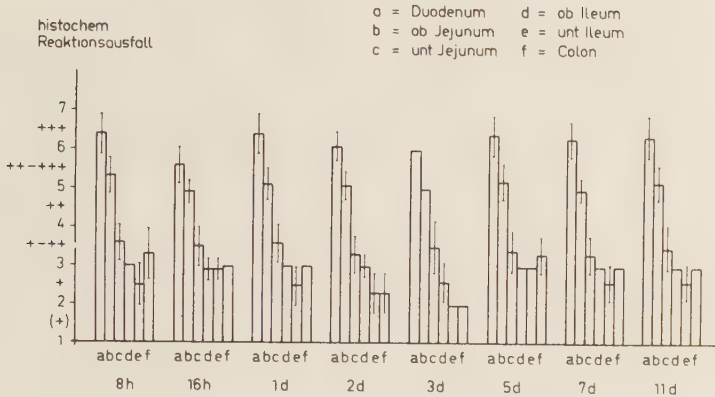
Säulen ohne eingezeichnete Standardabweichung entsprechen Mittelwerten, die aus zwanzig identischen Bewertungen errechnet wurden.

Malatdehydrogenase (s. Tabellen Seite 44-51)

Versuch I: Wie die Scheffé-Tests zeigen, existieren in einigen Fällen, besonders im Colon, signifikante Unterschiede innerhalb der Kontrollgruppe. (Abb. 13a). Bei den Versuchstieren findet sich im Duodenum und oberen Ileum ein Abfall bis 16 Stunden Hunger, gefolgt von einem leichten Anstieg bis 24 Stunden. Danach sinkt die Aktivität bis zum fünften bzw. siebten Hungertag ab. (Abb. 13 b). Mit Ausnahme vom elften Hungertag im oberen Ileum und vom siebten und elften Tag im Colon, zeigen alle Hungertiere zu ihren Kontrollen signifikante und auffällige Unterschiede unter dem Niveau der ad lib. ernährten Tiere, wie aus der einfachen Varianzanalyse ersichtlich. Bei Versuch II ergeben sich wenige tagesrhythmische Veränderungen. Im Duodenum und oberen Jejunum ist ein sich signifikant abhebendes Minimum um 20.00 Uhr. Im unteren Jejunum liegt ebenfalls ein Minimum um 20.00 Uhr, signifikant zu unterscheiden von 24.00 Uhr. Im Colon ist der Wert von 4.00 Uhr gegenüber 12.00 Uhr auffällig, gegen 20.00 und 24.00 Uhr signifikant erhöht. Die restlichen Darmabschnitte verhalten sich unauffällig.

Zusammenfassung: Bei Versuch I zeigt sich sinkende Enzymaktivität in den oberen Darmabschnitten der Versuchstiere. Versuch II: Tagesrhythmische Schwankungen sind andeutungsweise im Duodenum und Jejunum ersichtlich.

Versuch I. Kontrolle: Malatdehydrogenase



Versuch I. Versuchstiere: Malatdehydrogenase

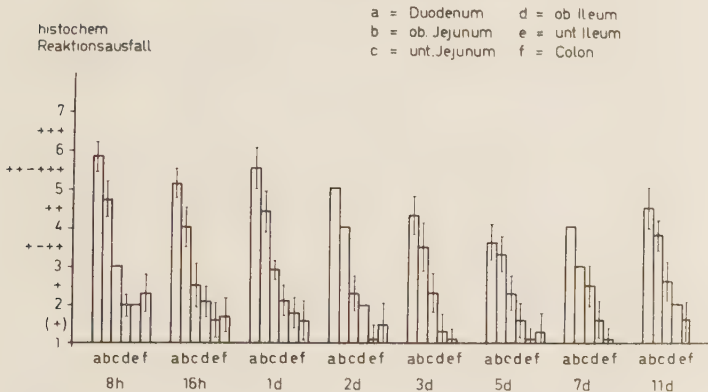


Abb. 13a

und b: Diagramm der Stärke des histochemischen Reaktionsausfalles der MDH bei den Kontrolltieren (a) und den Versuchstieren im fortschreitenden Hungerzustand (b). Die Höhe der Säulen entspricht den errechneten Mittelwerten mit eingezeichneter Standardabweichung. Auf der Ordinate sind der Bewertung für die statistische Überprüfung des histochemischen Reaktionsausfalles (1-7) die histochemisch gebräuchlichen Stärkegrade (+ - +++) zugeordnet.

Säulen ohne eingezeichnete Standardabweichung entsprechen Mittelwerten, die aus zwölf identischen Bewertungen errechnet wurden.

VI. a) Diskussion zu Versuch I

In bisherigen enzymhistochemischen und -biochemischen Untersuchungen am Organismus hungerner oder fehlernährter Tiere war die Darmschleimhaut nur in Ausnahmefällen Objekt der Erforschung. So ist das Quellenmaterial über Auswirkung von Inanition und Mangelernährung auf die Enzyme der Darmschleimhaut begrenzt.

MEIER (67) untersuchte Ratten und Mäuse, die teils einer akuten Inanition, teils einem hypoglykämischen Alloxandibetes ausgesetzt worden waren und fand in fast allen Organen parallel zum Abfall der Blutzuckerkonzentration bei den Hungertieren eine starke Verringerung der SPh-Aktivität; die andere Gruppe zeigte einen Aktivitätsanstieg. STENRAM (90) hingegen konnte keinerlei Unterschiede der Phosphatasekinetik zwischen hungernden und isocalorisch ernährten Tieren gegenüber ad lib. ernährten Kontrollen entdecken. WEBER und CANTERO (102) untersuchten die Konzentration der G-6-P in der Leber von Ratten und Mäusen, die 48 Stunden gehungert hatten, und fanden einen Anstieg von 60 %. Eine Erklärung für dieses Resultat liefert die Tatsache, dass bei Hunger die Glycogendepots abgebaut werden und dafür G-6-P zur Verfügung stehen muss. Ähnliche Versuche macht CHIQUOINE (13) und verifizierte ebenfalls eine eklatante Aktivitätszunahme in der Leber. RIECKEN und Mitarb. (80) und TANDON und Mitarb. (96) fanden bei Untersuchungen der ATPase und einiger Dehydrogenasen

bei mit Kaolin -als Nahrungsexpander- ernährten Tieren keine Konzentrationsveränderungen der ATPase im Vergleich zu normal ernährten Kontrollen. RIECKEN fand überwiegend vermehrte Aktivität der Dehydrogenasen, während TANDONS Experimente bei Proteinentzug sinkende SDH-Konzentrationen ergaben.

HSU und TARVER (48) massen mit biochemischer Methodik die GDH-Aktivität im Rattendarm. Absolut ergab sich ein Aktivitätsabfall nach 24 Stunden Hunger, in Relation zum Darmgewicht und zum Mucosaprotein änderte sich wenig. Möglicherweise resultierte der absolute Abfall aus der vermehrten Desquamation der Darmepithelzellen während der Hungerphase. Bei Schweinen, die mit zinkarmer Kost ernährt worden waren, ermittelte PRASAD (74) einen erniedrigten LDH- und MDH-Spiegel im Oesophagus, Pankreas und in der Haut.

Demgegenüber konnten in den eigenen Versuchen bei Tieren in fortschreitendem Hungerzustand folgende Befunde erhoben werden:

Bei der G-6-P ergeben sich kontinuierliche Aktivitätsabnahmen bei fortschreitendem Hungerzustand für die ersten vier proximalen Darmschlingen schon nach 16 Stunden Hunger.

Die ATPase hat besonders im Duodenum einen starken Aktivitätsrückgang zu verzeichnen. Bis zum fünften Hungertag ist die Abnahme nahezu linear. Danach tritt eine Stagnation bis zum siebten Hungertag ein und weiterhin bis zum elften Tag ein leichter Anstieg.

Alledahydrogenasen zeigen im Hungerzustand eine Verminderung ihrer histochemischen Aktivität, die meist im proximalen Dünndarm stärker ausgeprägt ist als distal.

In früheren Tierstudien über die Auswirkungen von Hunger auf den Gastrointestinaltrakt von Mc. CARRISON (65) zeigte sich eine schwere Atrophie aller Darmschichten. SUN (92) demonstrierte eine Destruktion der Zottenspitzen und eine Verkürzung der Zotten selbst. Eine Verringerung der mitotischen Aktivität im Darmepithel akut hungernder Mäuse wurde mit einer Verminderung der die Zotten und Krypten begrenzten Zellen von DILLER und BLAUCH (25) beobachtet. Mittels autoradiographischer Methode kamen BROWN und Mitarb. (10) und HOOPER und BLAIR (47) zu ähnlichen Ergebnissen. WIEBECKE und Mitarb. (103) konnten zeigen, dass Hunger zu einer herabgesetzten Migrationsrate der Zottenepithelien und damit zu deren Überalterung führt. In einer neuen Untersuchung von Mc. NEILL und HAMILTON (66) wurde im Darm der Versuchstiere nach 120 Stunden Hunger eine Verringerung der Zellen entlang der Krypten und Zotten, eine auf der Verkürzung der Villi beruhende Verkleinerung des Darmwandquerschnitts und die Abnahme der Migrationsrate der Darmepithelzellen beschrieben. Die dabei untersuchte Maltase- und Sucrase-Konzentration sank bei fortschreitendem Hunger, aber auch das Dünndarmgewicht

und das aus dem Zentrifugat gewonnene Mucosa-protein sowie das Körpergewicht nahm während des Versuchs ab. Auch ACHORD (1) fand in den ersten 48 bis 72 Stunden Hungerns einen rapiden Gewichtsverlust, resultierend vor allem aus den unkompensierten Salz- und Wasserverlusten. Dieser Entwicklung standen retinierende Mechanismen entgegen, die antagonistisch einen neuen "steady state" mit einem insgesamt reduzierten Plasmavolumen, aber mit einem normalen Kalium-, Natrium- und Chloridgehalt des Serums balancierten. Wenn der Energiebedarf des fastenden Organismus durch endogenes Fett oder Protein nur noch gedeckt werden konnte, waren Ketonurie, Ketonämie und eine metabolische Acidose die Folge. Vitamine, die nicht im Körper gespeichert werden konnten, fehlten während des Hungerns, so dass HARO und Mitarb. (42) schon nach vier Tagen der Inanition einen Thiaminmangel nachweisen konnten. Eine gestörte Resorption von Fetten, Kohlehydraten und Eiweiss in der Darmwand akut hungernder Menschen ermittelte ACHORD (1). Er betonte aber, dass schon geringe Nahrungsmengen, soweit sie essentielle Bestandteile aufwiesen, in der Lage waren, Resorptionsstörungen zu beheben und insgesamt die funktionelle Kapazität des Dünndarms zu vermehren. Zu ähnlichen Ergebnissen kam WILSON (105). Nach LOJDA und FABREY (60) steigt bei intermittierendem Hunger nicht nur die metabolische Dynamik der Dünndarmschleimhaut, sondern auch die Aktivität verschiedener Enzymsysteme. GELB und Mitarb. (35) demonstrierten nach zwei Tagen Hunger eine signifikant herabgesetzte

Fähigkeit des Hamsterdarms, Fettsäuren zu verestern. Herabgesetzte Aktivitäten der intestinalen Maltase fanden LEVIN und Mitarb. (58), der Sucrase BLAIR und Mitarb. (8), der Lactase KNUDSEN und BELLAMY (53) und der Amylase JU und NASSET (52). Mc. NEILL und HAMILTON (66) bestätigen den Abfall im Hinblick auf die Sucrase- und Maltaseaktivität, während sie die Lactase unverändert vorfanden. Ebenso konnten SRIVASTAVA und HÜBSCHER (89) keinen Abfall der beta-Galactosidase nach 48-stündigem Hunger finden. Während SOLIMANO und Mitarb. (86) einen Anfall der Dipeptidasen nach Fütterung einer proteinarmen Kost nachweisen konnten, fanden LEVIN und Mitarb. (58) bei der Untersuchung der gleichen Enzyme unter Hungerbedingungen keinerlei Veränderungen. Die histo- und biochemische Aktivität der alkalischen Phosphase soll nach Hunger oder Proteinentzug abfallen, nach Fütterung von fett- oder proteinreicher Kost zunehmen. (LAWRY und YUDKIN (57), JACKSON (49), TUBA und ROBINSON (99), DICKIE und Mitarb. (24), Triantaphyllopoulos und TUBA (98) und PRZELECKA und EIJS-MONT (76)). Über funktionelle, strukturelle und ultrastrukturelle Veränderungen am Darm berichten DEO und RAMALINGASWAMI (23), DONIACH und SHINER (26), TAKANO (95), SVOBODA und Mitarb. (93), HILL und PROSPER (44) und PROSPER und Mitarb. (75). Nach zehnwöchigem Proteinentzug beobachteten TANDON und Mitarb. (96) eine Verkürzung der Villi, Verringerung der Anzahl von Lieberkühn'schen Krypten und signifikant reduzierte SDH und SPh.

Nicht unerwähnt bleiben soll die Tatsache, dass Ratten Koprophagie praktizieren. Nach DARNES u. Mitarb. (4), stimulierten ein oder mehrere im Kot enthaltende Faktoren das Wachstum der Tiere. In welchem Ausmass das Enzymmuster des Darmes durch diesen Vorgang beeinflusst wird, ist noch nicht bekannt.

Wie aus den Ergebnissen dieser Arbeit ersichtlich, zeigen alle Enzyme der Darmwand bei fortschreitendem absoluten Hunger mehr oder minder Aktivitätsverluste. Die Ursachen dafür mögen einerseits im verringerten Substratangebot zu suchen sein, andererseits in strukturellen Veränderungen, wie Verkleinerung der Zotten und absolute Abnahme der die Zotten und Krypten begrenzenden Epithelzellen.

Es ist denkbar, dass sich mehrere Faktoren an den durch Hunger ausgelösten Zustand adaptieren: einerseits mag die herabgesetzte Enzymsynthese bedingt durch verringerte Substratinduktion die Enzymkinetik lähmen, andererseits können die durch Hunger bedingten Veränderungen des Hormongleichgewichts in das Stoffwechselgeschehen eingreifen. Insgesamt wird also der Versuch gemacht, essentielle Funktionen des Organismus auf niederer Ebene zu gewährleisten. Denn die Reversibilität des erzwungenen Zustands und dessen Auswirkungen sind bewiesen, und bei wiedereinkkehrenden normalen Bedingungen stellt sich auch der frühere physiologische Zustand enzymatischer Aktivität wieder her.

Die Verkettung von Wirkung und Wechselwirkung ist noch nicht völlig geklärt und bedarf der weiteren Erforschung.

b) Diskussion zu Versuch II

Aufgrund zahlreicher biochemischer und histochemischer Untersuchungen der letzten Jahre weiss man, dass das gesamte Stoffwechselgeschehen in Intensität und Verlauf gewissen Zuständen unterliegt, die periodisch fluktuierend sich ständig wieder einstellen. Es sind Variationsbreiten normaler Strukturen und Funktionen und gerade deshalb sollten sie bei der Beurteilung des qualitativen und quantitativen Enzymnachweises entschieden berücksichtigt werden. Ausgedehnte Untersuchungen liegen vor allem vor über das circadiane Verhalten der Tyrosintransaminase, von ZIGMOND und Mitarb. (108), COHN (14), FULLER (33), WURTMANN und Mitarb. (107), SHAMBOUGH (82) ebenso über das der SDH, GLICK und Mitarb. (38/39) und der Amylophosphorylase, EGLI (30).

LACKEY und BROOME (56) untersuchten die Tagesrhythmik von CO_2 -Produktion, O_2 -Verbrauch und Kalorienproduktion bei Ratten. Die Ergebnisse deuteten auf starke adaptive Reaktionen des Aktivitätsmusters der Enzyme hin. Auch war es möglich, wie sie nachweisen konnten, durch zeitlich limitiertes Füttern eine Umkehr des Circadianrhythmus des Grundumsatzes zu erreichen.

FURUYA und YUGARI (34) massen Fluktuationen im Transport von L-Histidin durch die Darmwand und fanden eine Abhängigkeit der Phase von der Zeit der Nahrungszufuhr. Bei Hungertieren wurde dieser Rhythmus mindestens einen Tag aufrechterhalten.

Gemeinsame Berührungspunkte im Sujet dieser Arbeit mit anderen Autoren bestehen lediglich bei HOLMGREN und SVANBORG (46): -sie fanden bei Untersuchungen der tagesrhythmischen Schwankungen der APh und der SPh in der Rattenleber keine statistisch signifikanten Aktivitätsunterschiede zwischen den einzelnen Tageszeiten-, und bei KOBAJASHI und FARNER (54), die sich mit Aktivitätsänderungen der SPh in der Hypophyse in Abhängigkeit von Stimulation mit Licht beschäftigten.

Die Untersuchungen an der vorliegenden Arbeit zeigen, dass die SPh über einen deutlich ausgeprägten Tagesrhythmus verfügt, mit einem Maximum um 16.00 Uhr und einem Minimum um 20.00 Uhr. Dies gilt für alle Darmschlingen, mit Ausnahme des Colons.

Bei der G-6-P ist ein Tagesrhythmus nicht eindeutig zu erkennen. Es ergibt sich lediglich ein Maximum um 16.00 Uhr für die ersten beiden proximalen Darmabschnitte. Die ATPase zeigt leichte Fluktuationen im Duodenum wohingegen die MAO in den oberen Darmabschnitten einen ausgeprägt dreigipfligen Tagesrhythmus unterhält. Die HbdH zeigt Schwankungen im Tagesverlauf, denen eine Rhythmik zugeordnet werden kann nur im Duodenum.

Über einen gut ausgeprägten Tagesrhythmus in allen Darmschlingen verfügt die LDH, mit Maxima um 16.00 Uhr und 24.00 Uhr und Minima um 8.00 Uhr und 20.00 Uhr. Die MDH zeigt Schwankungen im Duodenum und Jejunum mit einem Minimum um 20.00 Uhr. Mit Ausnahme der SPh, der LDH und möglicherweise der MAO, deren fluktuierende Aktivitäten im Verlauf eines Tages wohl als ausgeprägte Tagesrhythmen zu deuten sind, können die Aktivitätsschwankungen der übrigen Enzyme nach drei Tagen Hunger kaum circadiurnalen Rhythmen gleichgesetzt werden.

Schon in früheren Zeiten wusste man um die Existenz biologischer Rhythmen. Im 18. Jahrhundert soll Carl von LINNÉ eine Uhr aus Blüten verschiedener Pflanzen konstruiert haben, deren Mechanismus allein auf das zeitliche verschiedene Öffnen und Schliessen der Blüten basierte. Diese "Spielereien" gaben Anlass zu weiteren Beobachtungen und konnten sich nach ständig steigender Präzisierung und Differenzierung der Methodik und Thematik, in die biologischen und medizinischen Wissenschaften integrieren. Frühe Untersuchungen von AGREN und JORPES (2) und HOLMGREN (45) berichten über Fluktuationen des Leberglycogens. Letztlich waren es vor allem MAYERSBACH und Mitarb., die sich diesem Thema mehr aus der Sicht des Mediziners widmeten: MAYERSBACH (63) und zusammenfassend in einem Symposionsbericht, MAYERSBACH (64). Bedeutende Ergebnisse brachten die Arbeiten von HALBERG (40) und BÜNNING (11)(12).

BÜNNING konnte wesentliche Funktionsgrößen der "physiologischen Uhr" aufdecken. Er erkannte, dass physiologische 24-stündige Rhythmen auch bei Wegfall bestimmter Faktoren weiter fortbestehen, was auf das Bestehen eines endogen bedingten Tagesrhythmus schliessen lässt. Auffällig war, dass dieser Tagesrhythmus nicht einem exakten 24-stündigen Wechsel unterlag, sondern freilaufend nur ungefähr diese Zeitspanne umfasste. Man nannte ihn daher einen circadianen oder circadiurnalen Rhythmus.

Der gesamte Organismus unterliegt wahrscheinlich einer solchen circadianen Organisation, gleichsam gesteuert von einer zentralen Uhr. Dieses biologische Relais stellt eine Art von 'milieu interne' dar, ein Begriff geprägt von Claude BERNARD, dass dem 'milieu externe' gegenübersteht. Die exogenen Einwirkungen auf diese Fluktuationen, wie etwa Änderungen von Licht- und Temperaturwerten, sind synchronisierender Art, steuern nur die Phasenlage, nicht aber den tatsächlichen Verlauf. Neben den circadianen Rhythmen gibt es eine Reihe anderer Periodizitäten, korrespondierend mit den rhythmisch ablaufenden Ereignissen der Umwelt, wie Gezeiten, Mond- Jahreszeitwechsel etc. Innerhalb des Organismus können bestimmte Organe einen autonomen Rhythmus aufweisen, der mit dem anderer Organe durch bestimmte Faktoren, wie z.B. Hormonen koordiniert wird. Die circadiane Rhythmik insgesamt, kommt mit einem sehr geringen Energiebetrag aus. Bei Änderung der Energielage unter ein bestimmtes Niveau, werden nach und nach nur die an

die "innere Uhr" gekoppelten Vorgänge ausgeschaltet, erst bei fortlaufender Energiereduktion ändert sich der Gang der Uhr selbst. ASCHOFF (3), bestätigte BÜNNINGS These, dass Tagesrhythmen, unbeeinflusst von Licht- und Temperaturzyklen persistieren und ZIGMOND und Mitarb. (108) unterschieden zwischen einer endogenen Komponente wie z.B. die Tendenz der Ratte zu bestimmten Zeitpunkten zu fressen, was wiederum abhängig ist vom Zeitgeber Licht und der exogenen Komponente in Form der Verfügbarkeit der Nahrung. Bedeutungsvoll für die experimentelle Methodik ist der Hinweis von HALBERG (40) auf den sogenannten 'serial effect'. So sollen alle Arten von Stress und den Versuchstieren ungewohnte Handlungen streng vermieden werden, um eventuelle Einflüsse exogener Art auf das Versuchsergebnis auszuschliessen. Eine Standardisierung der Tätigkeiten, die von den Versuchstieren unmittelbar erlebt werden, wie das Betreten des Tierstalls oder die Fütterung, ist deshalb angebracht. Auch Mayersbach (64), wies auf gewisse Faktoren hin, die sich im Enzymmuster niederschlagen können, wie jahreszeitliche oder geschlechtsspezifische Einflüsse, aber auch qualitative Unterschiede verschiedener Zuchtstämme gleicher Spezies von Versuchstieren.

Steuernden Einfluss auf die intestinalen Enzymaktivitäten haben die Hormone der Nebennierenrinde. So konnten LÜTHY und VERZAR (61) einen Abfall der ATPase in der intestinalen Mucosa nach Adrenalectomie nachweisen, und zwar sank die

Aktivität der ATPase dem Ausmass der Insuffizienz entsprechend. Dieser Zustand war reversibel durch nachfolgende Injektion von Corticosteroiden.

Da nun die NNR einerseits einem endogenen Funktionsrhythmus mit circadianer Rhythmik unterliegt HALBERG und HAUS (41), vermag ihr hormoneller Einfluss zumindest den Tagesrhythmus der ATPase im Darm mitzusteuern. Dagegen spricht, dass bei fortschreitendem Hunger auch die Aktivität der NNR erhöht ist, was nach obigem Diskussionsbeitrag zwangsläufig einen noch ausgeprägteren Tagesrhythmus der ATPase im Darm nach sich ziehen müsste. Nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit ist dies nicht der Fall. Es ist aber denkbar, dass dieser an eine "innere Uhr" gekoppelte Vorgang mangels Energiezufuhr ausgeschaltet wird, die Verbindung von NNR und ATPase unterbrochen wird, um so Prioritäten des Stoffwechsels den Vorrang zu geben. Wie die Ergebnisse dieses Teils der Arbeit weiterhin zeigen, verfügen die SPh und die LDH auch bei fortschreitendem Hunger über einen ausgeprägten Tagesrhythmus. Auch die MAO zeigt in einigen Darmabschnitten tagesperiodische Schwankungen.

Die SPh erfüllt wahrscheinlich resorptive Funktionen, während die MAO zur Enttoxifikation biogener Amine dient und die LDH den Abbauschritt von Pyruvat zu Lactat katalysiert. Es ist bewiesen, dass bei Hungerzuständen vermehrt Adrenalin aus dem Nebennierenmark ausgeschieden wird,

RAPOPORT (78), was wiederum eine vermehrte Glycogenanalyse bewirkt und damit den fastenden Organismus mit Energie zu versorgen hilft. Aus dem Glycogen entsteht Glucose und daraus unter anderem mit Hilfe der LDH Lactat, das seinerseits über den Citratzyklus weiterverarbeitet wird. Diese Überlegung könnte verständlich machen, dass die LDH, trotz absoluter Aktivitätsabnahme bei hungernden Organismen, wegen ihrer wichtigen Stellung im Stoffwechsel, genügend Antrieb erhält, um einen gewissen Tagesrhythmus zu unterhalten.

VII. Zusammenfassung

Mittels histochemischer Methodik wurden einige Enzyme verschiedener Darmabschnitte der Ratte auf ihr Verhalten bei fortschreitendem Hunger und auf das Bestehen tagesrhythmischer Schwankungen nach drei Tagen Nahrungsentzug untersucht. Die histotopochemischen Aktivitäten wurden lichtmikroskopisch ermittelt und je nach Intensität des Reaktionsausfalles des jeweilig untersuchten Enzyms in ein Bewertungsschema eingeordnet. Die so erhaltenen Ergebnisse wurden mittels der einfachen Varianzanalyse und des Scheffé-Tests auf statistisch signifikante oder auffällige Unterschiede zu voll ernährten Kontrolltieren bzw.

zwischen den einzelnen Hungerzeiten, untersucht.

Ergebnisse: Die Aktivität der Glucose-6-Phosphatase, der Adenosintriphosphatase und der Dehydrogenasen nahm bei fortschreitendem Hunger besonders in den proximalen Darmabschnitten beträchtlich ab. Tagesrhythmische Schwankungen der enzymatischen Aktivitäten zeigten die Saure Phosphatase , die Monoaminoxidase und die Lactatdehydrogenase.

VIII. Literaturverzeichnis

1. ACHORD, J.L.: Acute effects of fasting on
 gastrointestinal structure and
 function.
 Med.Times 45, 441 (1967)
2. AGREN, W.G.:
 JORPES, O.: Cyclic changes in glycogen content
 of liver and muscles of rats and
 mice.
 Biochem.J. 25, 777 (1931)
3. ASCHOFF, J.: Circadian clocks.
 Amsterdam 1965
4. BARNES, R.H.,
 FIALA, G.,
 KWONG, E.: Decreased growth rate resulting
 from prevention of coprophagy.
 Fed.Proc. 22, 125 (1963)
5. BERG, G.,
 CHAPMANN, B.: The sodium and potassium activated
 adenosine triphosphatase of intestinal
 epithelium.
 Localization in the cell.
 J.Cell.Comp. Physiol. 65, 361
 (1965)
6. BHAGVAT, K.,
 BLASCHKO, H.,
 RICHTER, D.: Amine oxidase
 Biochem. J. 33, 1338 (1939)

7. BIEMPICA, L., NOVIKOFF, A.B.,
KAHN, B.J.: Biochemical cytology of absorp-
tive cells in rat intestine.
J.Histochem.Cytochem. 10, 654
(1962)
8. BLAIR, D.G.R., YAKIMETS, W.,
Rat intestinal sucrase.
II. The effect of rat age and
sex and of diet on sucrase
activity.
Canad.J.Biochem.Physiol. 41, 917
(1963)
10. BROWN, H.O., LEVINE, M.L.
LIPKIN, M.: Inhibition of intestinal epithelial
cell renewal and migration induced
by starvation.
Amer.J.Physiol. 205, (1963)
11. BÜNNING, E.: Die physiologische Uhr.
Berlin, Göttingen, Heidelberg
1963
12. BÜNNING, E.: Circadiane Rhythmik.
In: The cellular aspects of
biorhythms, Hrsg.: Mayersbach, H.v.
Berlin, Heidelberg, New York
1967

13. CHIQUOINE, A.D.: Further studies on the histo-chemistry of glucose-6-phosphatase. J. Histochem.Cytochem. 3, 471 (1955)
14. COHN,CJ.: Influence of feeding habits and adrenal cortex on diurnal rhythm of hepatic tyrosine transaminase activity.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 133, 460 (1970)
15. COTZIAS, G.L.,
DOLE, V.P. de: Metabolism of amines.
II. Mitochondrial localization of monoamine oxidase.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 78, 157 (1951)
16. COTZIAS, G.C.
DOLE, VP.de: Metabolism of amines.
I. Microdetermination of monoamine oxidase in tissues.
J. Biol.Chem. 190, 2 (1951)
17. CRANE, R.K.: Sodium dependent transport in the intestine and other animal tissues.
Fed. Proc. 24, 1000 (1965)
18. DAVIDSON, A.N.: Physiological role of monamine oxidase.
Physiol. Rev. 38, 729 (1958)

19. DEANE, H.W.,
DEMPSEY, E.W.: The localization of phosphatases
in the Golgi region of intestinal
and other epithelial cells.
Anat.Rec. 93, 401 (1945)
20. DEIMLING, O.H.v.: Die Demonstration von Phosphat frei-
setzenden Enzymen durch simultane
Schwermetall-Methoden.
Histochemie 4, 48 (1964)
21. DEMPSEY, E.W.,
DEANE, H.W.: The cytological localization,
substrate specifity and pH optima
of phosphatases in the duodenum of
the mouse.
J.Cell.Comp.Physiol. 27, 159 (1946)
22. DEMUTH, F.: Über Phosphatstoffwechsel.
I. Über Hexosephosphatasen in mensch-
lichen Organen und Körperflüssig-
keiten.
Biochem.Z. 152, 415 (1925)
23. DEO, M.G.:
RAMALINGASWAMI, K.: Absorption of CO ⁵⁸ labeled cyano-
cobalamine in protein deficiency.
An experimental study in the rhesus
monkeys.
Gastroenterology 46, 167 (1964)

24. DICKIE, M., ROBINSON, M.J.,
TUBA, J.: The role of alkaline phosphatase
in intestinal absorption.
II. The effects of various fatty
acids on levels of the enzyme
in intestinal mucosa.
Canad.J. Biochem. 33, 83 (1955)
25. DILLER, L.C.,
BLAUCH, B.M.: Influence of diet in mitotic
division in intestinal epithelium
of mouse.
Growth 10, 331 (1946)
26. DONIACH, J.
SHINER, M.: Duodenal and jejunal biopsy.
II. Histology.
Gastroenterology 33, 71 (1957)
27. DUVE, C. de,
Berthet, J., MERS, H.G.,
: Le système hexose-phosphatasique,
existence d'une glucose-6-phosphatase
specifique dans le foie.
Bull. Soc. Chim. Biol. 31, 1242 (1949)
28. DUVE, C. de: Lysosomes, a new group of cytoplasmatic
particles.
In: Subcellular particles. :
Amer.Physiol.Soc. Washington D.C.
1959

29. EDER, M.: Der histochemische Nachweis des Fermentes Monoaminoxidase. Beitr.Path. Anat. 117, 343 (1957)
30. EGLI, K.: Histochemische Untersuchungen der Amylophosphorylase in der Mäuseleber. Histochemie 8, 164 (1967)
31. EPPS, H.M.R.: Development of amine oxidase activity by human tissues after birth. Biochem. J. 39, 37 (1945)
32. FANTL, P., RONE, M.N., NELSON, J.F.: Factors controlling glucose formation in liver. Aust.J.Exp.Biol.Med.Sci. 20, 121 (1942)
33. FULLER, R.W.: Daily variation in liver tryptophan, tryptophanpyrolase and tyramine transaminase in rats fed ad libitum or single daily meals. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 133, 620 (1970)
34. FURUYA, S., YUGARI, Y.: Daily rhythmic change in the transport of histidine by everted sacs of rat small intestine. Biochim.Biophys. Acta 241, 245 (1971)

35. GELB, A.M., DAVIDSON, M.J.

KISSLER, J.L.:

Effect of fasting on esterification of fatty acids by the small intestine in vitro.
Amer.J.Physiol. 207, 1207 (1964)

36. GINSBURG, V.,

HERS, H.G.:

On the conversion of fructose to glucose by guinea pig intestine.
Biochim.Biophys.Acta 38, 427 (1960)

37. GLENNER, G.G., BURTNER, H.J.

BROWN, G.W. jr.:

The histochemical demonstration of monoamine oxidase by tetrazolium salts.
J. Histochem.Cytochem. 5, 591 (1957)

38. GLICK, D.,

GREENBERG, J.L.:

The qualitative histological distribution of the succinic dehydrogenase system in the rat adrenal and the influence of hypophysectomy, ACTH and cortisone.
Endocrinology 63 (6), 778 (1958)

39. GLICK, D., FERGUSON, R.B.,

GREENBERG, J.L.,

Circadian studies on succinic dehydrogenase panthotenate and biotin of rodent adrenal.
Amer.J. Physiol. 200, 811 (1961)

40. HALBERG, F.v.: Physiologic 24-hour periodicity.
General and procedural considerations
with deference to the adrenal cycle.
Z.Vitamin-Hormon Fermentforsch.10,
225 (1958)
41. HALBERG, F.v.:
HAUS, E.: Der circadiane Adrenalzyklus und seine
Bedeutung für die Reaktionsbereit-
schaft der Nebennierenrinde.
Wien.Z. Inn.Med. 43, 361 (1962)
42. HARO, E.N., BRIN, M.,
FALOON, W.W.: Fasting in obesity. Thiamine depletion
as measured by erythrocyte transketo-
lase changes.
Arch. Intern.Med.Chicago 117, 175 (1966)
43. HERS, H.G.,
DUVE, C.; de: Le systeme hexose-phosphatasique.
II. Réparation de l'activité glucose-
6-phosphatasique dans les tissus.
Bull.Soc.Chim.Biol. 32, 20 (1950)
44. HILL, R.B.,
PROSPER, J.: Protein starvation and the small in-
testine. The growth and morphology of
the small intestine in weanling rats.
Exp. Molec.Path. 8, 66 (1968)

45. HOLMGREN, H.: Studien über 24-stündige rhythmische Variationen des Darm-, Lungen- und Leberfettes nebst Untersuchungen über die Morphologie der Fettresorption des Leberfettes, des Leberglycogens und der Galle vorstadien; sowie über die 24-Std. rhythmischen Variationen im Gehalt des Pankreas an Zymogengranula
Acta Med.Scand. 74, 1 (1936)
46. HOLMGREN, H.:
SVANBORG, A.: Variations of the acid and alkaline phosphatase activity in the livers of the white rats during the 24 hours period.
Acta Med. Scand. 137, 187 (1950)
47. HOOPER, C.S.,
BLAIR, M.: The effect of starvation on the epithelial renewal in the rat duodenum.
Exp.Cell Res. 14, 175 (1958)
48. HSU, L., TARVER, H.: Distribution of the activities of various transaminases and GDM in the digestive tract of fed and fasted rats.
Gastroenterology 53, 78 (1967)
49. JACKSON, S.H.: The effect of food ingestion on intestinal and serum alkaline phosphatase in rats.
J.Biol.Chem. 198, 553 (1952)

50. JERVIS, H.R.: Enzymes in the mucosa of the small intestine of the rat the guinea pig and the rabbit.
J. Histochem.Cytochem. 11, 692 (1963)
51. JOHNSON, F.R.,
KUGLER, J.M.: The distribution of alkaline phosphatase in the mucosal cells of the small intestine of the rat, cat and dog.
J.Anat. 87, 247 (1953)
52. JU, J.S., NASSET, E.S.: Amylase in pancreas, intestine, liver and serum during fasting, non-protein diet and malnutrition.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 100, 834 (1959)
53. KNUDSEN, K.B.:
BELLAMY, M.M.: Effect of fasting and refeeding on the histology and disaccharidase activity of the human intestine.
Gastroenterology 55, 46 (1968)
54. KOBAYASHI, H.
FARNER, D.S.: The effect of photoperiodic stimulation on phosphatase activity in the hypothalamo-hypophyseal system of the white crowned sparrow
Z.Zellforschung 53, 1 (1960)
55. KOLLER, S.: Neue graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen.
Darmstadt 1959

56. LACKEY, W.W.,
BROOME, L.A.:
Diurnal patterns of rats determined
by calorimetry under controlled
conditions.
J. Appl.Physiol. 29, 824 (1970)
57. LAWLEY, N.R.,
YUDKIN, J.:
Effect of diet on the intestinal
phosphatase of the rat.
Biochem. J. 49, 438 (1949)
58. LEVIN, R.J., NEWBY, M.,
SMYTH, D.H.:
The effects of adrenalectomy and
fasting on intestinal function in
the rat.
J. Physiol.London 177, 58 (1965)
59. LEVINE, R.J.,
SJOERDSMA, A.:
Direct measurement of monoamine
oxidase inhibition in humans.
Cli.Pharmacol.Ther. 4, 22 (1963)
60. LOJDA, Z.,
FABRY, P.:
Histochemie und Histologie des Dün-
ndarms der an intermittierenden Hunger
adaptierten Ratten.
Acta Histochem. 8, 289 (1959)
61. LÜTHY, E.
VERZAR, F.:
Adenosine triphosphatase and hexo-
kinase in the epithelium of the
small intestine in normal and adre-
nalectomized rats.
Biochem.J. 54, 316 (1954)

62. MARTLAND, M.,
HANSMANN, F.S.,
ROBINSON, R.: The phosphoric esterase of blood.
Biochem.J. 18, 1152 (1924)
63. MAYERSBACH, H.v.: Biorhythmik und Histochemie.
VIII. International conference of
rhythm research.
Hamburg 1963
64. MAYERSBACH, H.v.: The cellular aspects of biorhythm.
Berlin, Heidelberg, New York
1967
65. MC.CARRISON, S.,E.: Remarks on diseases of faulty nutri-
tion.
Brit.Med.J. 1, 92 (1928)
66. MC.NEILL, L.K.,
HAMILTON, J.R.: The effect of fasting on disacchari-
dase activity in the rat small in-
testine.
Pediatrics 47, 65 (1971)
67. MEIER, A.L.: Der Einfluß der akuten Inanition
und des Alloxandiabetes auf die Phos-
phatasen verschiedener Organe.
Histotopochemische Untersuchungen an
Mäusen und Ratten.
Acta Anat. 11, 192 (1950)

68. ÖCKERMANN, P.A.: Glucose-6-phosphatase in human jejunal mucosa, lack of activity in glyconeogenesis of caris Type I. Clin.Chim.Acta 2, 151 (1964)
69. PADYKULA, H.A., STRAUSS, E.W.,
LADMANN, A.J.,
und Mitarbeiter : A morphological and histochemical analysis of the human jejunal epithelium in nontropical sprue. Gastroenterology 40, 735 (1961)
70. PEARSE, A.G.E. Histochemistry, Theoretical and Applied.
London 1960
71. PEARSE, A.G.E.,
RIECKEN, E.O. : Histology and cytochemistry of the cells of the small intestine in relation to absorption. Brit.Med.Bull. 23, 3 (1967)
72. PENTILLÄ, A. : Distribution and intensity of monoamine oxidase in the mammalian duodenum. Acta Physiol.Scand. 73, 121 (1968)
73. PLANTEYDT, H.T.,
WILLIGHAGEN, R.G.J. : Enzyme histochemistry of the human stomach with spezial reference to intestinal metaplasia. J.Path.Bact. 80, 317 (1960)

74. PRASAD, A.S.: Changes in trace elements and enzyme activities in tissues of zinc depleted pigs.
Amer.J.Clin.Nutr. 22, 628 (1969)
75. PROSPER, J., MURRAY, R.L.,
KERN, F. jr.: Protein starvation and the small intestine.
II. Disaccharidase activities.
Gastroenterology 5, 223 (1968)
76. PRZELECKA, A.,
EIJSMONT, G.: Alkaline phosphatase activity and synthesis of intestinal phospholipids.
J.Histochem.Cytochem. 10, 596 (1962)
77. RAGGI, F.: Glucose-6-Phosphatase activity in various sheep tissues.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 105, 485 (1960)
78. RAPOPORT, S.M.: Medizinische Biochemie. 5. Auflage
berlin 1969
79. RASSER, G., PETZOLD, D.,
BRAUN-FALCO, O.: Zur qualitativen Bewertung histochemischer Dehydrogenasendarstellung.
Histochemie 5, 707 (1965)
80. RIECKEN, E.O., DOWLING, R.H., BOOTH, C.C.,
and Mitarbeiter: Histochemical changes in the rat small intestine associated with enhanced absorption after high bulk feeding.
Enzym.Biol.Clin. 5, 231 (1965)

81. RUTENBURG, A.M.,
SELIGMANN, A.M.: Acid phosphatase by post-incubation
coupling.
J. Histochem.Cytochem. 2, 455 (1955)
82. SHAMBOUGH, G.E.: Hormonal factors altering rhythmi-
city of tyrosine-alpha-ketoglutarate
transaminase in rat liver.
Endocrinology 81, 811 (1967)
83. SHELDON, H., ZETTERQVIST, H.,
BRANDES, D.: Histochemical reactions for electron
microscopy: acid phosphatase.
Exp.Cell.Res. 2, 592 (1955)
84. SHNITKA, T.K.: Enzymatic histochemistry of gastro-
intestinal mucous membrane.
Fed.Proc. 19, 897 (1960)
85. SKOU, J.C.: Influence of some cations on an
adenosine triphosphatase from peri-
pheral nerves.
Biochem.Biophys.Acta 23, 394 (1957)
86. SOLIMANO, G., BURGESS, E.A.,
LEVIN, B.: Protein-caloric malnutrition:
effect of deficient diets on enzyme
levels of jejunal mucosa of rats.
Brit.J.Nutr. 21, 55 (1967)
87. SOLS, A.: The hexokinase activity of the
intestinal mucosa.
Biochim. Biophys. 19, 144 (1956)

88. SPENCER, R.P., BRODY, K.R.,
BOW, T.M.: Intestinal levels of adenosine
triphosphate, glutamatepyruvate-
transaminase and lactic dehydroge-
nase.
Gastroenterology 44, 282 (1963)
89. SRIVASTAVA, L.M.,
HÜBSCHER, G.: Glucose metabolism in the mucosa
of the small intestine. Enzyme of
the pentose phosphate pathway.
Biochem.J. 101, 48 (1966)
90. STENRAM, U.: Effect of high carbohydrate, fat or
protein diets and of starvation on
histochemically determined phosphata-
ses in epithelium of small intestine
in rat.
Acta Anat. 20, 101 (1954)
91. STRAUS, W.: Colorimetric analyses with N,N-dime-
thyl-p-phenylene-diamine of the
uptake of intraveniously injected
horseradish peroxidase by various
tissues of rat.
J. Biophys.Biochem.Cyt. 4, 541 (1958)
92. SUN, T.P.: Histophysiological study of epitheli-
al changes in the albino mouse after
starvation and refeeding.
Anat.Rec. 34, 341 (1927)

93. SVOBODA, D., GRADY, H.,
HIGGINSON, J.: The effect of chronic protein
deficiency in rats.
II. Biochemical and ultrastructural
changes.
Lab. Invest. 15, 731 (1966)
94. SWANSON, M.A.: Phosphatases of liver glucose-6-
phosphatase.
J.Biol. Chem. 184, 647 (1950)
95. TAKANO, J.: Intestinal changes in protein
deficient rats.
Exp.Molec.Path. 3, 224 (1964)
96. TANDON, B.N., NEWBERNE, P.M.,
YOUNG, V.R.: A histochemical study of enzyme
changes and ultrastructure of the
jejunal mucosa in protein depleted
rats.
J.Nutr. 99, 519 (1969)
97. TAPPEL, A.L.,
HSU, L.: Lysosomal enzymes of rat intestinal
mucosa.
J.Cell Biol. 23, 233 (1964)
98. TRIANTAPHYLLOPOULOS E.,
TUBA, J.: Changes in intestinal and serum
alkaline phosphatase levels during
absorption of certain amino acids.
Canad.J.Biochem.Physiol. 37, 711
(1959)

99. TUBA, J.,
ROBINSON, M.J.: Response of intestinal alkaline
phosphatase of fasted rats to
forced feeding of rat.
J.Biol.Chem. 203, 947 (1953)
100. VILAR, O.,
BIEMERCA, L.: Changes in enzymatic activity at
different levels of intestinal
epithelium of rats.
J.Histochem.Biochem. 9, 636 (1961)
101. WALKER, B.S.: Acid phosphatase; a review.
Amer.J.Clin.Path. 24, 807 (1954)
102. WEBER, G.,
CANTERO, A.: Glucose-6-phosphatase. Studies in
fasting.
Science 120, 851 (1954)
103. WIEBECKE, B.R., HEYBOWITZ, R., LÖHRS, U.,
: Der Einfluss des Hungerns auf die
Proliferationskinetik der Dünn- und
Dickdarmschleimhaut der Maus.
Virchows Arch.Path.Anat. Berlin 4, 164
(1969)
104. WILSON, T.H.,
CRANE, R.K.: The specificity of sugar transport
by hamster intestine.
J.Nutr. 27, 316 (1968)

105. WILSON, D.N.,
WILSON, H.G. Studies in vitro of the digestion
and absorption of purine nucleotides by the intestine.
J.Biol.Chem. 237, 1643 (1962)
106. WOHLRAB, F.: The histochemical detection of
monoamine oxidase with thiazolyl-
substituted tetrazolium salts in
the presence of metal ions.
Histochemie 2, 163 (1961)
107. WURTMANN, R.J.,
SHOEMAKER, W.J.,
LARIN, F.: Mechanism of the daily rhythm in
hepatic tyrosine transaminase activity: role of dietary tryptophan.
Proc.Nat.Acad.Sci. 59, 800 (1968)
108. ZIGMOND, M.J.,
SHOEMAKER, W.J.,
LARIN, F., : Hepatic tyrosine transaminase rhythm:
interactions of environmental lighting, food consumption and dietary protein content.
J. Nutr. 98, 71 (1969)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. A. Schäfer für die Überlassung des Themas und seiner und Herrn Dr. P. Höhns freundlicher Unterstützung.

Die statistischen Auswertungen wurden im Institut für Statistik und Dokumentation der Universität durchgeführt. Ich danke Frau Dr. Ehrenberg-Kieckebusch für ihre Beratung und Unterstützung bei der Durchführung.

Lebenslauf

Am 6.6.1948 wurde ich als drittes Kind des Weinhändlers Heinrich Noll und seiner Ehefrau Mathilde, geb. Schulte-Ortbeck in Oppenheim am Rhein geboren und römisch-katholisch getauft.

In Oppenheim besuchte ich die Grundschule von 1954 bis 1958 und danach bis 1966 das Neusprachliche Gymnasium. Nach dem Abitur entschloss ich mich zum Studium der Humanmedizin und wurde an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz immatrikuliert. Dort bestand ich 1968 das Vorphysikum und 1969 das Physikum. Den klinischen Teil meines Studiums absolvierte ich an den Universitätskliniken in Mainz.

Die vorliegende Inauguraldissertation wurde von mir im Oktober 1970 im Pathologischen Institut (Direktor: Prof. Dr. med. H. Bredt) der Johannes Gutenberg-Universität Mainz unter der Obhut von Prof. Dr. A. Schäfer begonnen.

Am 6.12.1972 bestand ich das medizinische Staatsexamen. Mein weiteres Interesse gilt der Ausbildung zum Facharzt für innere Krankheiten.

